

## ประสิทธิภาพของอัลตราโซนิกในการตรวจวัดปริมาณไขมันในน้ำนม ที่มีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน

### Efficiency of Ultrasonic Milk Analyzers in Measuring Fat Content of Milk with Different Fat Globule Sizes

#### คำนำ

ปัจจุบันนมเป็นอาหารที่ต้องการบริโภคของคนทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้บริโภคที่ต้องการดูแลและรักษาสุขภาพของตนเองตลอดจนบุคคลอื่น ทั้งนี้เพราะตระหนักดีว่านมมีประโยชน์ต่อร่างกาย มีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วน และเหมาะกับผู้บริโภคทุกเพศทุกวัย ในประเทศไทยรัฐบาลส่งเสริมให้มีโครงการนมโรงเรียนโดยมีการจัดสรรงบประมาณ ให้เด็กในวัยเรียนตั้งแต่ชั้นอนุบาลถึงประถมศึกษาปีที่ 4 มีสุขภาพที่ดีจากการดื่มนม รวมทั้งส่งเสริมให้ประชากรทุกเพศทุกวัยหันมาบริโภคผลิตภัณฑ์นมเป็นประจำทุกวัน ส่งผลให้ความต้องการบริโภคผลิตภัณฑ์นมในแต่ละวันเพิ่มสูงขึ้น มีกระบวนการผลิตเป็นรูปแบบระบบอุตสาหกรรมมากขึ้นตามลำดับ ด้วยเหตุนี้ความต้องการน้ำนมดิบในปัจจุบันซึ่งผลิตได้ในประเทศถูกนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มเกือบทั้งหมด

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร [ส.ศ.ก.] (2548) รายงานว่า สถานการณ์ในประเทศไทย ในปีพ.ศ. 2547 มีการเลี้ยงโคนมประมาณ 496,000 ตัว ผลิตนมน้ำนมดิบ 830,666 ตันต่อปี หรือ 2,275 ตันต่อวัน สำหรับปริมาณน้ำนมดิบที่ส่งเข้าโรงงานมีจำนวนประมาณ 797,430 ตัน คาดว่าแนวโน้มในปีพ.ศ. 2548 จะมีจำนวนโคนมประมาณ 558,000 ตัว เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2547 ร้อยละ 12.50 ผลิตนมน้ำนมดิบทั้งหมด ประมาณ 905,000 ตัน หรือ 2,479 ตันต่อวัน คาดว่าน้ำนมดิบที่จะส่งโรงงานมีจำนวนประมาณ 868,800 ตัน เพิ่มขึ้น ร้อยละ 8.95 และสามารถผลิตนมพร้อมดื่มได้ทั้งหมดประมาณ 816,932 ตัน เพิ่มขึ้น ร้อยละ 5.60 ซึ่งเป็นอัตราที่สูงกว่าปีที่ผ่านมา เนื่องจากคาดว่าโครงการรณรงค์ส่งเสริมการบริโภคนมของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ จะสามารถเพิ่มอัตราการบริโภคนมของคนไทยได้เพิ่มขึ้น ร้อยละ 15

ศูนย์รวบรวมน้ำมันดิบ มีหน้าที่รวบรวมน้ำมันดิบจากฟาร์มต่าง ๆ และตรวจคุณภาพน้ำมันดิบเบื้องต้น (Platform quality tests) จากเกษตรกร ปัจจุบันมีศูนย์รวบรวมน้ำมันดิบซึ่งเป็นศูนย์ของสหกรณ์อยู่ประมาณ 104 ศูนย์ (ส.ศ.ก., 2548) โดยเกษตรกรที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์แต่ละแห่งเป็นผู้จัดส่งนมให้ศูนย์รวบรวมน้ำมันของสหกรณ์ และถ้าสหกรณ์ไม่มีโรงงานของตนเอง จะส่งนมให้กับองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย(อ.ส.ค.) หรือโรงงานผลิตผลิตภัณฑ์นมต่อไป ด้วยเหตุนี้จึงทำให้มีปัจจัยจากองค์ประกอบในน้ำมันซึ่งถูกนำมาใช้ในการกำหนดราคาน้ำมันดิบให้แก่เกษตรกร ก่อนส่งต่อไปให้กับโรงงานผลิตนม การพิจารณาองค์ประกอบของน้ำมันดังกล่าว เช่น ปริมาณเนื้อมันรวมมันเนยหรือ Solid not fat ที่ระดับ 8.25 เปอร์เซ็นต์ หากต่ำกว่าระดับที่กำหนดทุก 0.1 เปอร์เซ็นต์ ก็ปรับราคาลดจากฐานราคา 0.10 บาท (ชุมนุมสหกรณ์โคนมแห่งประเทศไทย, 2542; ส.ศ.ก., 2548) นอกจากนี้โรงงานผลิตนมบางแห่งยังกำหนดมาตรฐานของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมด้วย หากไขมันนมต่ำกว่า 3.25 เปอร์เซ็นต์จะปฏิเสธไม่รับน้ำมันดิบในครั้งนั้นเข้าสู่โรงงานนม ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันโดยเฉพาะอย่างยิ่งไขมันนมสามารถวิเคราะห์หาในห้องปฏิบัติการเท่านั้น โรงงานผลิตนมส่วนใหญ่วิเคราะห์ไขมันนมก่อนเริ่มขั้นตอนการผลิต ซึ่งจัดว่าเป็นวิธีปฏิบัติที่ค่อนข้างยุ่งยาก ต้องใช้เครื่องมือที่มีความจำเพาะทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแต่ละวิธีการ โดยส่วนใหญ่โรงงานขนาดกลางและเล็กใช้วิธีการทางเคมี นอกจากนี้ความเที่ยงตรงและความแม่นยำของการวิเคราะห์ไขมันนมแต่ละวิธีก็แตกต่างกันใช้ระยะเวลานาน เสียค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากสารเคมีที่ใช้มีราคาแพง และต้องเตรียมสารเคมีไว้ล่วงหน้าหรือขณะปฏิบัติงาน ทั้งนี้ผลกระทบจากสารเคมีอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้ปฏิบัติงาน และสิ่งแวดล้อมได้ อย่างไรก็ตามได้มีทางเลือกใหม่ ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ทางอ้อม (indirect method) โดยใช้เครื่องมืออัตโนมัติ เพื่อทดแทนวิธีการที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเหมาะกับศูนย์รวบรวมน้ำมันดิบ หรือโรงงานผลิตนมที่ต้องการตรวจสอบคุณภาพน้ำมันดิบจำนวนมากๆ ทั้งนี้อุปกรณ์ดังกล่าวต้องมีคุณสมบัติใช้งานง่าย ประหยัดปฏิบัติงานได้เร็วและต้องให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องใกล้เคียงความเป็นจริง ศูนย์รวมน้ำมันดิบต่าง ๆ หรือโรงงานผลิตนมขนาดกลางและเล็กสามารถใช้ในหน่วยงานของตนเองได้ ถึงแม้ว่าวิธีนี้จะสะดวก รวดเร็ว และสามารถปรับมาตรฐานกับวิธีอ้างอิง(วิธีมาตรฐาน) เช่น วิธีมอจอนเนียร์ (Bradley, Jr, 2000) แต่มีข้อจำกัดคือ ราคาแพงและผู้ใช้งานต้องมีทักษะความรู้ก่อนใช้งาน อุปกรณ์วิเคราะห์ทางอ้อมอย่างหนึ่งที่ได้มีการพัฒนาขึ้นใช้งานเพื่อการนี้คือ อุปกรณ์วิเคราะห์โดยอาศัยคลื่นเสียงระบบอัลตราโซนิก

เนื่องจากอุปกรณ์คลื่นเสียงระบบอัลตราโซนิก เริ่มมีการนำเข้ามาใช้ในประเทศไทย ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ห้องค์ประกอบน้ำมันระบบคลื่นเสียงอัลตราโซนิก ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบน้ำมันโดยเฉพาะปริมาณไขมันนม จากตัวอย่างน้ำมันดิบและตัวอย่างนมที่ผ่านระบบโฮโมจีไนส์ เพื่อนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาไปปรับใช้ในห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพนม ตลอดจนศูนย์รวบรวมน้ำมันดิบ ให้มีความเข้าใจในการใช้เครื่องมือดังกล่าว ตลอดจนมีความเหมาะสม ความเที่ยงตรง และแม่นยำมากยิ่งขึ้น

## วัตถุประสงค์

การศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราโซนิค ดำเนินการศึกษาตามวัตถุประสงค์ ดังนี้

1. ศึกษาความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค ก่อนและหลังปรับมาตรฐาน ค่าสมการถดถอย และอิทธิพลของระยะเวลาการใช้งานของเครื่องมืออัลตราโซนิค ต่อความผันแปรในการวิเคราะห์ไขมันนม เปรียบเทียบกับวิธีมอจนเนียร์
2. ศึกษาอิทธิพลของปริมาณไขมันในนมดิบและขนาดอนุภาคไขมันนมต่อการวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค
3. ศึกษาผลของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค เมื่อขนาดอนุภาคไขมันนมแตกต่างกัน โดยผ่านระบบโฮโมจิไนเซชันด้วยความดันแบบ Single-stage และ Two-stage ที่ระดับความดันต่างกัน
4. ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมินมดิบต่อความผันแปรของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมและความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค

## การตรวจเอกสาร

การใช้คลื่นเสียงอัลตราโซนิค (Ultrasonic) เป็นวิธีการที่ใช้แพร่หลายในปัจจุบัน สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารและกระบวนการผลิต มีมานานกว่า 60 ปีแล้ว (McClements, 1995; Bamberger *et al.*, 1999) เทคนิคการใช้อัลตราโซนิค สามารถวิเคราะห์ได้เร็ว มีความเที่ยงตรง เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ไม่ทำลายส่วนประกอบของอาหาร (non – destructive analysis of food) ขณะทำการวิเคราะห์ใช้กับวัตถุทึบแสงได้ และไม่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อโรคในอาหาร (McClements, 1995; Mizrach *et al.*, 1996; Cartwright, 1998; Bamberger *et al.*, 1999; Irudayaraj and Cho, 2003)

### หลักการทำงานของอัลตราโซนิค

คลื่นเสียง คือ คลื่นตามยาวซึ่งหูของคนปกติได้ยิน โดยมีความถี่ตั้งแต่ประมาณ 20 ถึง 20,000 เฮิรตซ์ (Hz) จากการวัดคลื่นเสียงพบว่า การแปรผันของความดันมากที่สุดของเสียงดังที่สุดเท่าที่หูของคนเราจะทนได้มีค่าเท่ากับ  $28 \text{ Nm}^2$  (ก่องกัญจน์ และธนากาญจน์, 2531) โดยทั่วไปคลื่นเสียงที่มีความถี่ต่ำกว่า 20 เฮิรตซ์ เรียกว่า คลื่นใต้เสียง (infrasonic waves) เช่น คลื่นใต้จากการเกิดแผ่นดินไหว และคลื่นเสียงที่มีความถี่สูงกว่า 20,000 เฮิรตซ์ เรียกว่า คลื่นเหนือเสียง (ultrasonic waves) เช่น คลื่นที่เกิดจากการสั่นของผลึกควอตซ์ซึ่งเกิดขึ้นโดยการให้สนามไฟฟ้าสลับแก่ผลึก (อนันตสิน และคณะ, 2541) โดยทั่วไปหูของคนปกติไม่สามารถรับฟังคลื่นเสียงอัลตราโซนิคได้ (Povey, 1998)

McClements (1995) รายงานว่า สัตว์บางชนิดสามารถใช้ประโยชน์จากอัลตราโซนิคเพื่อหาอาหารและการดำรงชีวิตมาเป็นเวลากว่าล้านปี เช่น ค้างคาวและโลมาใช้คลื่นเสียงระดับความเข้มต่ำ (Low-intensity ultrasonic pulses, LIU) ในการพิจารณาและตัดสินใจขนาด รูปร่าง ความเร็ว ของแมลงและเหยื่อได้ ขณะที่ปลาบางชนิดใช้คลื่นเสียงระดับความเข้มสูง (High-intensity ultrasonic pulses, HIU) เพื่อหลบหนีจากการถูกล่า มนุษย์สามารถใช้ประโยชน์จากอัลตราโซนิคในอุตสาหกรรมอาหาร คือการใช้ LIU ที่ระดับความเข้มเสียงน้อยกว่า  $1 \text{ Wcm}^2$  โดยใช้ความถี่สูงประมาณ 250,000 ถึง 1,000,000 เฮิรตซ์ เพื่อการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของอาหาร เช่น องค์ประกอบ โครงสร้าง ขนาดอนุภาคและอัตราการใช้พลังงาน สามารถประยุกต์กับอุปกรณ์หรือเครื่องตรวจวัดสำหรับกระบวนการผลิตด้วย ส่วน HIU สามารถใช้ประโยชน์ในช่วงความเข้มเสียงที่ระดับ

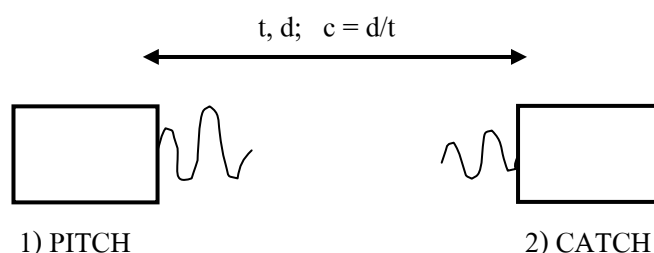
10 ถึง  $1000 \text{ Wcm}^{-2}$  แต่ใช้ระดับความถี่ 20,000 ถึง 300,000 เฮิรตซ์ เพื่อให้วัตถุเกิดการแยกตัว และศึกษาปฏิกิริยาเคมี เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน การเกิดอิมัลชัน และการแยกตัวของเซลล์ นอกจากนี้ HIU ยังใช้ในการทำความสะอาดผิววัตถุ ทำลายและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารได้ (Mulet *et al.*, 2002)

การใช้ประโยชน์จาก LIU ในการตรวจวัดวัตถุคิอาหารมี 3 พารามิเตอร์ ที่ใช้ในการพิจารณา ดังนี้ (McClements, 1995; Povey, 1998; Mulet *et al.*, 2002; Dukhin and Goetz, 2003)

### 1. ความเร็วของอัลตราโซนิค (Ultrasonic velocity)

เมื่อมีการแพร่ผ่านตัวกลางหรือวัตถุ ปรากฏว่าคุณสมบัติของความเร็วเสียง ( $c$ ) ที่เคลื่อนผ่านวัตถุขึ้นอยู่กับค่า elastic modulus ( $E$ ) และความหนาแน่น ( $\rho$ ) ของวัตถุนั้น โดยมีสมการที่คำนวณคือ  $1/c^2 = \rho / E$  และค่า modulus ดังกล่าวนี้อยู่กับสถานะของวัตถุที่ใช้ทดสอบเช่น ก๊าซ ของเหลว หรือของแข็ง โดยที่ลักษณะของคลื่นจะมีการบีบอัด (compression) หรือเกิดเป็นลักษณะของ shear wave ที่ต่างกัน ดังนั้นจึงทำให้ค่า modulus และความหนาแน่นของวัตถุเปลี่ยนแปลงไปตามลักษณะโครงสร้าง ส่วนประกอบ และสถานะทางฟิสิกส์ของวัตถุนั้น นอกจากนี้ค่าความเร็วของอัลตราโซนิคที่สามารถผ่านวัตถุยังสามารถพิจารณาได้จากความยาวคลื่นของคลื่นอัลตราโซนิค (wavelength,  $\lambda$ ) โดยปกติมีความสัมพันธ์กับความถี่ของคลื่น (frequency,  $f$ ) ซึ่งมีสมการที่คำนวณคือ  $c = \lambda f$  หรืออาจพิจารณาได้จากเวลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่ของคลื่นอัลตราโซนิคผ่านวัตถุ (time,  $t$ ) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับระยะทาง (distance,  $d$ ) โดยสามารถวัดได้จากสมการคือ  $c = d / t$  สำหรับอุปกรณ์ที่เป็นต้นกำเนิดความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิค เรียกว่า Transducers ตามรายงานของ Buckin *et al.* (2003) อธิบายว่า อุปกรณ์ที่เป็นตัวกำเนิดคลื่นความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิคที่มีชื่อเรียกว่า Piezotransducers หลักการคือการทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของกระแสไฟฟ้าแล้วเปลี่ยนแปลงเป็นสัญญาณคลื่นเสียงภายในอุปกรณ์ดังกล่าว จากนั้นส่งคลื่นอัลตราโซนิคผ่านตัวกลางได้ Dukhin and Goetz (2003) รายงานว่า ความเร็วของอัลตราโซนิคเคลื่อนที่ผ่านผลิตภัณฑ์อาหารมีความผันแปรตั้งแต่ 1,000 – 2,000 เมตรต่อวินาที ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารนั้น และอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ยังมีผลต่อค่าความเร็วของอัลตราโซนิค นอกจากนี้ Povey (1998) รายงานว่าเทคนิคที่ใช้ในการวัดความเร็วของอัลตราโซนิคเรียกว่า Pitch and catch โดยทั่วไปประกอบด้วยตัว Transducers ซึ่งเป็นต้นกำเนิดคลื่นอัลตราโซนิคหรือส่งสัญญาณและมีตัวรับสัญญาณอีกชนิดหนึ่ง ขณะที่ทำการปล่อยคลื่นอัลตราโซนิคจากจุดเริ่มต้นจะมีอุปกรณ์เริ่มจับเวลาจนกระทั่งถึงจุดสิ้นสุดรับ

สัญญาณเวลาจะหยุดลง ดังนั้นเวลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่และระยะทางทั้งหมดจึงนำมาประเมินเป็นค่าความเร็วของอัลตราโซนิกได้ ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 หลักการของความเร็วอัลตราโซนิกวัดด้วยเทคนิค Pitch and Catch

ที่มา: ดัดแปลงจาก Povey (1998)

## 2. Attenuation coefficient ( $\alpha$ )

ภายหลังจากคลื่นอัลตราโซนิกเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางหรือวัตถุ มีพลังงานบางส่วนที่สูญเสียไปจากการดูดซับของตัวกลาง (adsorption) ดังนั้นหลักการของ attenuation จะสามารถตรวจวัดการลดลงของค่าแอมพลิจูด (amplitude) จากคลื่นอัลตราโซนิกที่เคลื่อนที่ผ่านวัตถุได้ โดยปกติประกอบด้วย การดูดซับ และการแพร่กระจาย (scattering) ของคลื่นเสียงอัลตราโซนิก การดูดซับของคลื่นเสียงในวัตถุนิตต่าง ๆ เป็นกลไกทางฟิสิกส์ที่สามารถเปลี่ยนแปลงพลังงานจากคลื่นเสียงกลายเป็นพลังงานความร้อน ซึ่งพบได้ในตัวอย่างที่เป็นของเหลว ส่วนการแพร่กระจายของคลื่นเสียงเกิดขึ้นในวัตถุแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน ตัวอย่างเช่น สภาพอิมัลชัน (emulsion) สารแขวนลอย (suspension) และ ฟอง (foams) รวมทั้งความเข้มข้น ความหนืด และลักษณะโครงสร้างหรือพันธะระหว่างโมเลกุลของอาหาร เมื่ออัลตราโซนิกจากแหล่งกำเนิดตกกระทบบนอนุภาคที่ไม่สม่ำเสมอ การแพร่กระจายจึงไปในทิศทางต่างกัน ซึ่งมีลักษณะแตกต่างกับการดูดซับของคลื่นอัลตราโซนิกที่มีการสะสมพลังงาน ดังนั้น เมื่อพิจารณาการดูดซับและการแพร่กระจายของอัลตราโซนิก จึงเป็นคุณสมบัติทางฟิสิกส์อย่างหนึ่งที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวของวัตถุดิบอาหารนั้น ๆ ซึ่งมีประโยชน์สำหรับการทดสอบค่าพารามิเตอร์ attenuation coefficient ของวัตถุต่างๆ และสามารถคำนวณได้โดยมีสมการดังนี้

$$A = A_0 e^{-\alpha x}$$

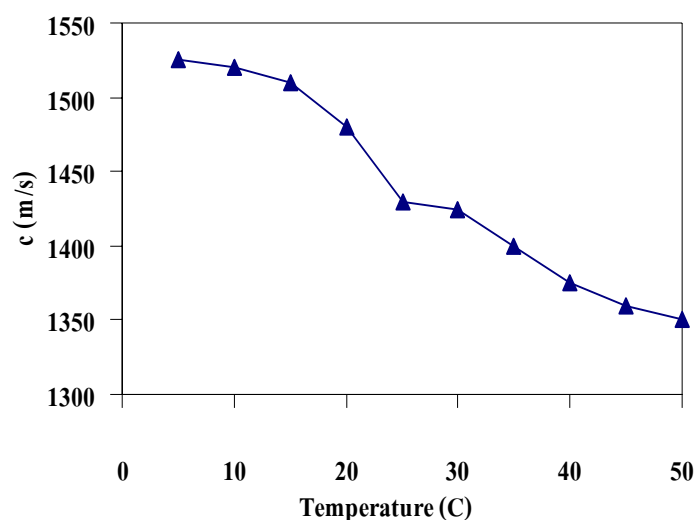
เมื่อ  $A_0$  เป็นค่าแอมพลิจูดเริ่มต้นของคลื่น (Initial amplitude of the wave)

$A$  เป็นค่าแอมพลิจูดที่ใช้กับระยะทางนี้ (Amplitude at this distance)

$x$  เป็นระยะทางของการเคลื่อนที่ของคลื่น (Distance traveled by the wave)

โดยมีหน่วยวัดเป็น nepers / เมตร ( $\text{Np m}^{-1}$ ) หรือสามารถเปลี่ยนเป็นหน่วย เดซิเบล (decibels) / เมตร ( $\text{dB m}^{-1}$ ) เมื่อ  $1 \text{ Np} = 8.686 \text{ dB}$

อย่างไรก็ตาม Buckin *et al.* (2003) รายงานว่า สำหรับการวัดด้วยค่า attenuation coefficient ดังกล่าวไม่จำเป็นต้องใช้ตัวอย่างที่มีอนุกรมวิธานสูง และสามารถใช้ในตัวอย่างขนาดใหญ่ได้ (large samples) จึงมีประโยชน์สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (kinetics of fast chemical reactions) และขนาดอนุภาคของวัตถุในสภาพอิมัลชันหรือสภาพแขวนลอยได้ ซึ่งแตกต่างกับค่าความเร็วของอัลตราโซนิก ที่มีความไวสูงต่อโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลในวัตถุ ด้วยเหตุนี้จึงไม่สามารถใช้ค่าดังกล่าวมาวัดในตัวอย่างขนาดใหญ่ได้ เพราะการควบคุมอนุกรมวิธานทำได้ยาก อย่างไรก็ตามมีการศึกษาของ Dukhin and Goetz (2003) ที่เน้นถึงความสำคัญของค่า attenuation coefficient มากกว่าค่าความเร็วของอัลตราโซนิกในการวิเคราะห์คุณสมบัติโดยทั่วไปของอาหาร และพบว่าค่า attenuation coefficient มีความไวเพียงเล็กน้อยต่ออนุกรมวิธาน ในทางตรงข้ามกับค่าความเร็วของอัลตราโซนิกซึ่งมีความไวสูง (very sensitive) ต่ออนุกรมวิธาน ขัดแย้งกับการศึกษาของ McClements (1991) อ้างโดย Dukhin and Goetz (2003) ที่ระบุว่าค่าความเร็วของอัลตราโซนิกมีความสำคัญและต้องพิจารณามากกว่า เป็นไปในทำนองเดียวกับรายงานของ Singh *et al.* (2004) ที่ศึกษาอิทธิพลของอนุกรมวิธานต่อความเร็วของอัลตราโซนิกในตัวอย่าง anhydrous milk fat (AMF) ที่เพิ่มอนุกรมวิธานให้แก่ตัวอย่างสูงขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อวัดอนุกรมวิธานในช่วงระหว่าง 5 ถึง 50 องศาเซลเซียส ผลปรากฏว่าความเร็วของอัลตราโซนิกที่ใช้วัดลดลงตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ความเร็วของอัลตราโซนิกในตัวอย่าง anhydrous milk fat วัดเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น  
ที่มา: ดัดแปลงจาก Singh *et al.* (2004)

อย่างไรก็ตามมีการศึกษาถึงค่าความเร็วและค่า attenuation coefficient ของอัลตราโซนิกในตัวอย่างน้ำและผลิตภัณฑ์นมที่แตกต่างกันพอสังเขป ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความผันแปรของค่าความเร็วและค่า attenuation coefficient ของอัลตราโซนิกในตัวอย่างน้ำและผลิตภัณฑ์นม (T = 20 °C)

ประเภทอาหาร	ความเร็ว (m s <sup>-1</sup> )	ค่า attenuation coefficient (dB cm <sup>-1</sup> )			
		2.50 MHz	4.50 MHz	8.00 MHz	100 MHz
Water <sup>3</sup>	1,500				0.20
Whole milk <sup>1</sup>	1,518	0.90	1.58	2.79	
Evaporated milk <sup>1</sup>	1,547	2.30	3.70	6.29	
Cheese <sup>2</sup> curing 36 day	1,610				
curing 152 day	1,650				
curing 321 day	1,660				

ที่มา: <sup>1</sup>Madsen *et al.* (1998), <sup>2</sup>Benedito *et al.* (2000), <sup>3</sup>Dukhin and Goetz (2003)

### 3. Acoustic impedance

เมื่อคลื่นอัลตราโซนิกตกกระทบระหว่างผิวของตัวกลาง 2 ชนิดซึ่งเป็นวัตถุที่แตกต่างกัน บางส่วนของคลื่นเกิดการสะท้อนกลับ (reflected) และบางส่วนของคลื่นเคลื่อนที่ผ่านไปได้ จึงมีสัดส่วนของแอมพลิจูดจากการสะท้อนกลับของคลื่น ( $A_r$ ) ต่อค่าการตกกระทบของคลื่น แล้วผ่านไป ( $A_i$ ) ซึ่งเรียกว่า reflection coefficient (R) หาได้จากสมการ ดังนี้

$$R = A_r / A_i = (Z_1 - Z_2) / (Z_1 + Z_2)$$

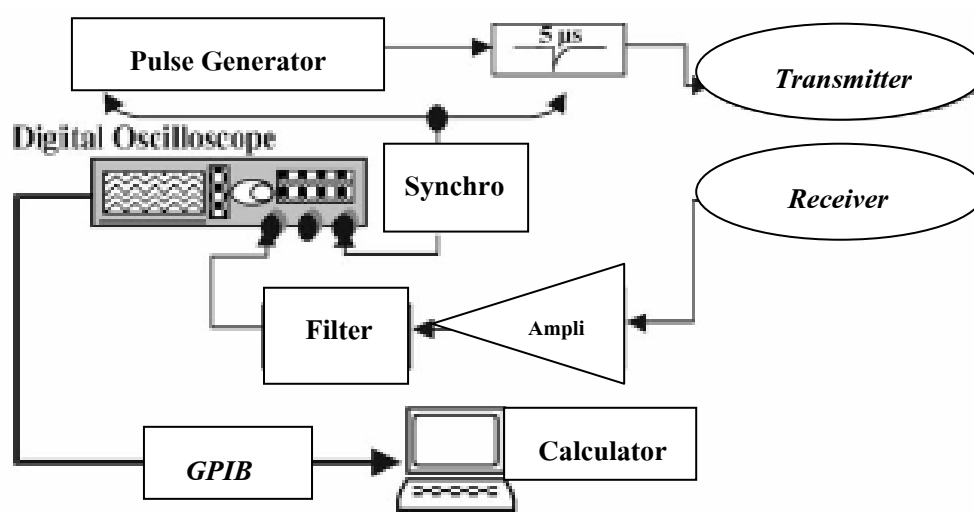
เมื่อ Z คือ ค่า acoustic impedance ส่วนตัวเลข 1 และ 2 คือ ตัวกลาง 2 ชนิดที่แตกต่างกัน ถ้ามีอัลตราโซนิกตกกระทบน้อยมากจากพื้นผิวของวัตถุที่มีค่า acoustic impedance น้อยลง เช่นเดียวกัน การใช้ประโยชน์ของคลื่นอัลตราโซนิกโดยอาศัยค่า Acoustic impedance จากหลักการดังกล่าว สามารถเชื่อมต่อกับอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์อื่น ๆ เช่น จอภาพ แล้วทำการประมวลผลด้วยภาพหรือสร้างเป็นภาพ (imaging) ขึ้นมาได้ (McClements, 1995; Mulet *et al.*, 2002)

ระบบการวิเคราะห์ของอัลตราโซนิก (Ultrasonic measuring system) ที่มีใช้กันอยู่ในปัจจุบันประกอบด้วยอุปกรณ์และขั้นตอนดังต่อไปนี้ (Benedito *et al.*, 2000; Nassar *et al.*, 2004; Elvira *et al.*, 2005)

1. ตัวส่งสัญญาณ (Transmitter) และตัวรับสัญญาณ (receiver) ผลิตจากวัสดุประเภทผลึกคริสตัล (crystal) หรือ เรียกว่า piezoelectric transducers มีอยู่ด้วยกัน 1 คู่ และมีเส้นผ่านศูนย์กลางแต่ละอันประมาณ 2 เซนติเมตร ระยะห่างกันประมาณ 3 เซนติเมตร สามารถเป็นต้นกำเนิดความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิกได้ประมาณ 200,000 ถึง 1,000,000 เฮิรตซ์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน นอกจากนี้ในขั้นตอนดังกล่าวต้องมีการควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์ โดยใช้น้ำกลั่นที่อุ่นให้ร้อนภายในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) จนมีอุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส

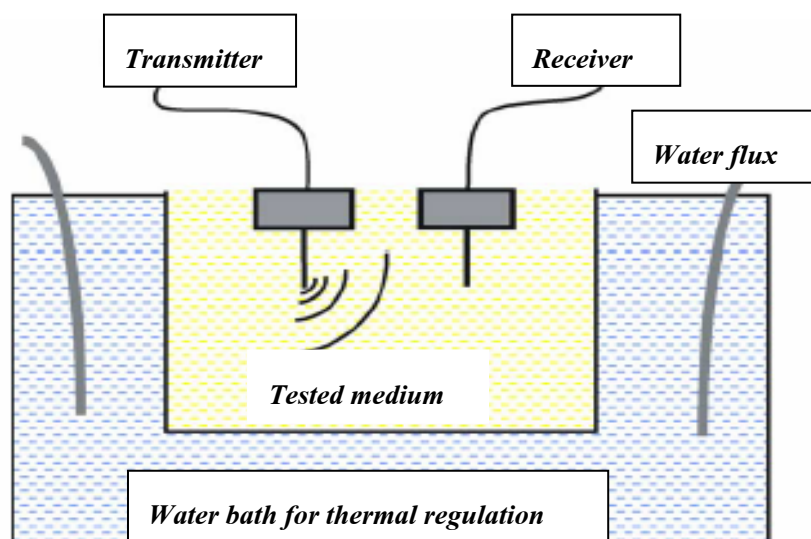
2. Digital Oscilloscope เป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ช่วยแปลงสัญญาณของอัลตราโซนิกที่ได้รับมาจากตัวรับสัญญาณ อุปกรณ์ดังกล่าวนี้เชื่อมต่อไปยังคอมพิวเตอร์

3. คอมพิวเตอร์และ General Purpose Interface Bus (GPIB) เป็นอุปกรณ์ที่ช่วยควบคุมการทำงาน of ระบบ รวมทั้งการประมวลผลการอ่านค่าความเร็วของอัลตราโซนิก (time of flight) ค่าแอมพลิจูดและพารามิเตอร์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง สำหรับรูปแบบระบบการวิเคราะห์ของอัลตราโซนิก แสดงในภาพที่ 3 และการควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่าง แสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 3 รูปแบบระบบการวิเคราะห์ของอัลตราโซนิก

ที่มา: Nassar *et al.* (2004)



ภาพที่ 4 การใช้อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ของตัวอย่างเมื่อวิเคราะห์ด้วยอัลตราโซนิก  
ที่มา: Nassar *et al.* (2004)

เมื่อพิจารณาถึงรายงานการศึกษาการใช้ประโยชน์จากคลื่นอัลตราโซนิกโดยเฉพาะ LIU ในของตัวอย่างอาหารประเภทต่าง ๆ ของโรงงานอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมการผลิตนมปรากฏว่า การใช้พารามิเตอร์ ความเร็ว และ attenuation coefficient ของคลื่นอัลตราโซนิกสามารถตรวจวัดหรือประเมินองค์ประกอบต่าง ๆ ในน้ำนม เช่น ขนาดอนุภาคไขมันในน้ำนม (milk fat globules) ตลอดจนเคซีนไมเซลล์ (casein micelles) ได้ ส่วนค่า acoustic impedance ใช้ตรวจวัดวัตถุคิที่มีคุณสมบัติเป็นฟองอากาศ (air bubbles in aerated foods) หรือใช้เพื่อประเมินการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยภาพ (Imaging of microbial growth) เป็นต้น (McClements, 1995)

## การใช้ประโยชน์จากอัลตราโซนิกในผลิตภัณฑ์นม

### 1. การยับยั้งและตรวจสอบจุลินทรีย์ในน้ำนม

U.S. Food and Drug Administration (2000) รายงานถึง การใช้อัลตราโซนิก ร่วมกับวิธีการอื่น ๆ เช่น ความร้อน ความดัน หรือสารเคมีสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารได้ และยังระบุว่าการใช้อัลตราโซนิกเพียงอย่างเดียวผ่านนมรสช็อกโกแลตเป็นเวลา 30 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *Salmonella spp.* ได้ สอดคล้องกับรายงานของ D'Amico, Jr *et al.* (2003) ซึ่งศึกษาการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่ระดับความถี่ 20,000 เฮิร์ตซ์ และมีความเข้มเสียงที่ระดับ 110 วัตต์ ผ่านตัวอย่างนมดิบเป็นระยะเวลา 6 นาที ผลปรากฏว่าสามารถลดเชื้อ *Listeria monocytogenes* จากระดับ 8.39 log CFU/ml ลงเหลือ 6.40 log CFU/ml และยังเสนอว่าวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นทางเลือกใหม่เพื่อใช้ยับยั้งจุลินทรีย์ในน้ำนม และไม่ทำให้อาหารสูญเสียโภชนะหรือเปลี่ยนแปลงสีและกลิ่น นอกจากนี้ เทคนิคของอัลตราโซนิกสามารถใช้ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris* และ *Bacillus pumilus* ในผลิตภัณฑ์นมบรรจุกล่องที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนแบบ UHT ได้ โดยไม่จำเป็นต้องเปิดกล่องนมก่อนการทดสอบ (Elvira *et al.*, 2005)

### 2. การโฮโมจีไนส์น้ำนม (Homogenization)

Ertugay *et al.* (2004) รายงานผลจากการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อการโฮโมจีไนส์น้ำนม และศึกษาขนาดอนุภาคไขมันนมที่เปลี่ยนแปลง ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกล้องสำหรับถ่ายภาพ เปรียบเทียบกับวิธีการโฮโมจีไนส์แบบธรรมดา พบว่าการใช้อัลตราโซนิกที่ระดับ 100 (450 w) นาน 10 นาที ทำให้อนุภาคไขมันนมมีเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กที่สุด คือมีขนาดเท่ากับ 0.725 ไมครอน สำหรับการใช้อัลตราโซนิกที่ระดับ 40 (180 w) นาน 10 นาที ปรากฏว่าไขมันนมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P>0.01$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีโฮโมจีไนส์แบบธรรมดา ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลดลงเท่ากับ 2.375 และ 2.625 ไมครอนตามลำดับ นอกจากนี้ การศึกษาของ Michalski *et al.* (2002) รายงานว่าการใช้อัลตราโซนิกที่ระดับความถี่ 20,000 เฮิร์ตซ์ ร่วมกับความร้อน ที่มีอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ผ่านตัวอย่างนมที่มีปริมาตรเท่ากับ 20 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 20 วินาที ถึง 5 นาที แล้วสำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด Laser light scattering ผลปรากฏว่าที่ระยะเวลา 1 นาทีทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมมีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด

### 3. การตรวจสอบองค์ประกอบน้ำนม

Mulet *et al.* (2002) รายงานถึง สิ่งเจือปนในนม เช่น การเติมน้ำในนมสามารถตรวจสอบได้จากการใช้ความเร็วจากอัลตราโซนิก โดยศึกษาความแปรปรวนของความเร็วจากอัลตราโซนิก ในนม 2 ชนิดได้แก่ นมโค และนมกระบี้อ ซึ่งทั้ง 2 ชนิดมีเปอร์เซ็นต์ของน้ำในนมแตกต่างกัน องค์ประกอบนมจึงต่างกัน ทั้งนี้ความเร็วที่ลดลงของอัลตราโซนิกในกรณีนี้ ยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความถ่วงจำเพาะ และความหนืดของตัวอย่างนมด้วย

#### เครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนมระบบอัลตราโซนิก (Ultrasonic Milk Analyzers)

Weber Scientific (2003) อธิบายถึง เครื่องมือชนิดสำเร็จรูปที่นำระบบอัลตราโซนิกมาใช้วิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม ว่าเป็นหลักการพื้นฐานทางฟิสิกส์ที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของคลื่นเสียงที่ตกกระทบในตัวกลางที่ต่างกันโดยใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่สูง ดังนั้นค่าที่ใช้วัดองค์ประกอบน้ำนมประกอบด้วยค่าความเร็ว (transit time) และ attenuation สามารถใช้ค่าพารามิเตอร์ดังกล่าวหาความสัมพันธ์ขององค์ประกอบในน้ำนมได้ อย่างไรก็ตามเครื่องมือดังกล่าวมีชื่อเรียกว่า LactiCheck™ Milk Analyzers อาศัยหลักการของคลื่นเสียงที่มีความถี่สูงและต่อเนื่องกัน (continuous wave impulse) ส่งผ่านตัวอย่างนม ทำให้ค่าแอมพลิจูดในทางทฤษฎีของเครื่องมือนี้ ซึ่งวัดได้จากอุปกรณ์ที่เรียกว่า Microprocessor สามารถทำนายค่าการแพร่กระจายและกลไกการดูดซับของคลื่นเสียงในน้ำนม ตลอดจนการเคลื่อนที่ของอนุภาคต่าง ๆ เช่น ไขมัน เนื้อมนมไม่รวมมันเนย สามารถวัดค่าได้โดยตรง ความสัมพันธ์ของคลื่นอัลตราโซนิกที่ใช้มีความต่อเนื่อง และแพร่ผ่านตัวอย่างนม เป็นสาเหตุให้ความหนืดภายในตัวอย่างนมสูญเสียไป การเคลื่อนที่ภายในอนุภาคที่ต้องการวัดจึงเกิดช้าลงระหว่างของเหลวและอนุภาคดังกล่าว อันเป็นผลมาจากพลังงานเสียงเปลี่ยนไปเป็นความร้อน ดังนั้นค่าความเร็วของอัลตราโซนิกและอุณหภูมิที่เปลี่ยนไปในตัวอย่าง จึงทำให้เครื่องมือดังกล่าวมีความแม่นยำหรือเที่ยงตรงได้ ส่วนคุณสมบัติอื่น เช่น โปรตีน การเติมน้ำในนม และ จุดเยือกแข็ง (Freezing point) สามารถคำนวณได้จาก Microprocessor ซึ่งเป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ ทั้งนี้ค่าดังกล่าวขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบต่าง ๆ ที่มีอยู่ในน้ำนม ซึ่งคำนวณจากสูตรเฉพาะทางคณิตศาสตร์ สอดคล้องกับรายงานของ Eon Trading (2001) ที่ระบุการใช้เครื่องมือวิเคราะห์โดยอาศัยคลื่นเสียง (Ultrasonic Milk Analyzers) ที่มีชื่อเรียกทั่วไปว่า Ekomilk จัดเป็นเครื่องมือที่ใช้หลักการเดียวกับ LactiCheck™ Milk Analyzers สามารถปรับมาตรฐาน หรือสอบเทียบกับวิธีอ้างอิง (calibration) โดยนำค่าที่วัดได้จากวิธีอ้างอิงหรือวิธีมาตรฐานมาเปรียบเทียบกับวิธีใช้เครื่องมือ

Ultrasonic Milk Analyzers ให้อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้แล้วทำการปรับมาตรฐาน นอกจากนี้ยังรายงานว่ เครื่องมือนี้สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ไขมัน มีช่วงการวัดระหว่าง  $0.5 - 9 \pm (0.10)\%$  (ค่าในวงเล็บคือ ค่าความแม่นยำ) เปอร์เซ็นต์เนื้อมันไม่รวมมันเนย มีช่วงการวัดระหว่าง  $6 - 12 \pm 0.2\%$  ความถ่วงจำเพาะมีช่วงการวัดระหว่าง  $1.0260 - 1.0330 \pm 0.0005 \text{ g/cm}^3$  เปอร์เซ็นต์โปรตีนมีช่วงการวัดระหว่าง  $2 - 6 \pm 0.2 \%$  และเปอร์เซ็นต์การเติมน้ำ มีช่วงการวัดระหว่าง  $0 - 60 \pm 5 \%$

อย่างไรก็ตามสำหรับวิธีวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนมต่าง ๆ เช่น ไขมันนม ปัจจุบันสามารถวิเคราะห์ได้ 2 วิธี คือ การวิเคราะห์ทางเคมี และการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ การวิเคราะห์ทางเคมีนิยมใช้เป็นวิธีอ้างอิงมากกว่านำมาใช้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสำหรับงานประจำเพื่อการควบคุมคุณภาพนม การกำหนดราคานมดิบ หรือการปรับปรุงพันธุ์โคนม เนื่องจากวิธีอ้างอิงค่อนข้างซ้ำใช้แรงงานมาก ค่าวิเคราะห์ต่อตัวอย่างสูง โดยเฉพาะเมื่อต้องวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก ความแปรปรวนของค่าที่ได้รับสูง ในทางตรงกันข้าม วิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือสามารถกระทำได้ในเวลาอันรวดเร็ว สะดวก และง่ายต่อการใช้ ต้นทุนต่ำ และให้ผลเป็นที่น่าเชื่อถือ ถ้าเครื่องมือดังกล่าวผ่านการพิสูจน์หรือสอบเทียบว่าให้ผลตรงกับวิธีอ้างอิง (ณัฐมา, 2547)

#### **การวิเคราะห์ปริมาณไขมันนมด้วยวิธีมอจนเนียร์ (Mojonnier method)**

วิธีมอจนเนียร์ เป็นการวิเคราะห์ไขมันนมทางเคมี จัดว่าเป็น Gravimetric method ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการแยกไขมันออกจากองค์ประกอบอื่น ๆ ของน้ำนม นำไขมันที่แยกออกได้ไปชั่งน้ำหนัก วิธีการนี้ใช้เป็นวิธีการอ้างอิงสำหรับการสอบเทียบหรือปรับมาตรฐานกับการวิเคราะห์หาไขมันในนมดิบ ด้วยเครื่องอัตโนมัติที่ใช้รังสีอินฟราเรด เช่น เครื่องมิลโคสแกน (Milkoscan) มีข้อดี คือสามารถให้ผลแม่นยำ และใช้ได้กับผลิตภัณฑ์นมทุกชนิด ข้อเสียคือ เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เวลานาน ต้องใช้อุปกรณ์เฉพาะอย่างซึ่งมีราคาแพง ไม่เหมาะกับการนำมาใช้เป็นงานประจำ (Bradley, Jr, *et al.*, 1992; Christen, 1992; Andersen *et al.*, 1993; Harding, 1995; Bradley, Jr, 2000) วิธีนี้จัดเข้าเป็นวิธีมาตรฐาน ซึ่งได้รับการยอมรับจาก IDF-ISO-AOAC หมายเลข 989.05 โดยใช้ชื่อว่า Modified Mojonnier Ether Extraction Method จัดเป็น First Action ในปี ค.ศ.1989 (Helrich, 1990) และ Final Action ในปี ค.ศ.1992 (Bradley, Jr, 2000) นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในสหรัฐอเมริกา เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับวิธีอื่น เช่น วิธีแบบค็อก (Babcock method) โดยใช้ตัวอย่างน้ำนมเดียวกัน พบว่าวิธีมอจนเนียร์ให้ผลต่ำกว่า และวิธีแบบค็อกให้ผล

สูงกว่า +0.056 เปอร์เซ็นต์ (Rosenthal, 1991) ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ ญีฐิมา (2547) พบว่าไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีแบบคือกมีค่าเฉลี่ย (least squares mean) สูงกว่า ( $P < 0.01$ ) วิธีมอ-  
จอนเนียร์ เท่ากับ +0.091 เปอร์เซ็นต์

### ความเที่ยงตรงและความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ไขมันนม

ในการทดสอบวิธีการวิเคราะห์นั้น ผู้ทดสอบต้องใช้รูปแบบของการทดสอบที่เป็นมาตรฐานและได้รับการยอมรับจากองค์กร ซึ่งประกอบด้วย International Dairy Federation (IDF), International Organization for Standardization (ISO) และ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) และต้องมีขั้นตอนต่าง ๆ ตามที่ระบุไว้ ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจอนเนียร์ ขั้นตอนประกอบด้วย หลักการ (Principle) อุปกรณ์ (Apparatus) สารเคมี (Reagents) การวิเคราะห์ (Determination) การคำนวณ (Calculation) และพารามิเตอร์ของความเที่ยงตรง ได้แก่ อัตราซ้ำ (Repeatability value,  $r$ ) อัตราการถ่ายถอด (Reproducibility value,  $R$ ) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราซ้ำ (Standard deviation of repeatability,  $S_r$ ) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราการถ่ายถอด (Standard deviation of reproducibility,  $S_R$ ) และค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (Coefficient of variation, CV) หรือ (Repeatability relative standard deviation,  $RSD_r$ ) (Bradley, Jr., 2000) นอกจากนี้ collaborative study ได้กำหนดไว้ว่ากระบวนการทดสอบจะถูกยอมรับได้ต่อเมื่อ 1) ต้องกระทำอย่างน้อย 8 ห้องปฏิบัติการ (ยกเว้นกรณีใช้อุปกรณ์ราคาแพงและเป็น ห้องปฏิบัติการขั้นสูงสามารถกระทำอย่างน้อยที่ 5 ห้องปฏิบัติการ) 2) ตัวอย่างที่เข้ารับการทดสอบต้องไม่น้อยกว่า 5 ตัวอย่าง (กรณีพิเศษอย่างน้อย 3 ตัวอย่าง) และเป็นเนื้อเดียวกัน 3) ต้องมีการทำซ้ำของตัวอย่างที่เข้ารับการทดสอบ เพื่อใช้ประเมินความคลาดเคลื่อนของการทดลองและค่าอัตราซ้ำ (repeatability parameters) และ 4) ประมาณค่าความแปรผันระหว่างห้องปฏิบัติการได้ (Helrich, 1990; Marshall and Peeler, 1992 ; Lynch and Barbano, 1997)

ญีฐิมา (2547) รายงานว่า ประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์สามารถอธิบายได้จาก ปริมาณที่วัดได้ และค่าทางสถิติที่ได้จากการทดลอง จะเป็นตัวระบุความเหมาะสมในการวิเคราะห์ให้ตรงตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ ซึ่งสามารถใช้ได้กับทุกวิธี โดยเฉพาะวิธีที่วิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมี และวิธีวิเคราะห์ที่ยอมรับว่าเป็นมาตรฐานต้องผ่านเกณฑ์ของลักษณะและคุณสมบัติต่อไปนี้ คือ 1) accuracy 2) specificity 3) sensitivity 4) applicability 5) blanks 6) precision 7) practicability

### ค่าความเที่ยงตรง

ปัจจุบันนิยมใช้ค่าพารามิเตอร์ความเที่ยงตรง (Precision parameter) วัดออกมาเป็นอัตราซ้ำ (Repeatability value, r-value) หมายถึง ค่าความแตกต่างระหว่างผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน 2 ซ้ำ ด้วยวิธีเดียวกัน ภายใต้สภาวะเดียวกัน (ผู้ปฏิบัติงานวิเคราะห์เครื่องมือ ห้องปฏิบัติการเดียวกัน) ซึ่งอาจเรียกว่าความคลาดเคลื่อนสุ่มภายในห้องปฏิบัติการ โดยแสดงในรูปของ variance ( $S_r^2$ ) หรือ standard deviation ( $S_r$ ) สำหรับ r-value คำนวณได้จาก สูตร  $r\text{-value} = 2.83 \times S_r$  หรือ  $r\text{-value} = 2\sqrt{2} \times S_r$  (ณัฐมา, 2547; Grappin, 1987; Taylor, 1987) ตรงกันข้าม อัตราซ้ำหรือความคลาดเคลื่อนสุ่มที่เกิดขึ้นระหว่างห้องปฏิบัติการ เรียกว่า อัตราการถ่ายทอด (reproducibility value, R-value) สามารถวัดออกมาเป็นค่า reproducibility variance ( $S_R^2$ ) หรือ standard deviation of reproducibility ( $S_R$ ) ซึ่งคำนวณหาโดยใช้ผลรวมของค่า replicate variance (repeatability value) และ variance ระหว่างห้องปฏิบัติการ (Marshall and Peeler, 1992)

ค่าฐานเปรียบเทียบ (Relative basis) เช่น ค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (CV) คำนวณได้จากสูตร  $CV = (s/\bar{X}) \times 100\%$  เมื่อ  $s$  คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ  $\bar{X}$  คือ ค่าเฉลี่ย สำหรับค่า CV นี้ ไม่มีหน่วย แต่คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ ใช้เป็นดัชนีที่มีประโยชน์ในการเปรียบเทียบทางสถิติเพราะมีคุณสมบัติเป็นค่าแสดง relative variability คือ ความผันแปรสัมพันธ์กับค่าเฉลี่ยทำให้ไม่เปลี่ยนแปลงง่ายในกรณีที่มีข้อมูลหลายชุดที่คล้ายคลึงกัน หรือใช้ในการประมาณขนาดของการทดลองเพื่อให้ได้ความแม่นยำ (จรัญ, 2540) นอกจากนี้ยังสามารถวัดออกมาเป็น relative standard deviation (RSD) ซึ่งจัดเป็นมาตรวัดความเที่ยงตรงที่มีประโยชน์มากที่สุดในการวิเคราะห์ทางเคมี ทั้งนี้เป็นเพราะว่า RSD เป็นอิสระจากความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่ถูกวิเคราะห์ ค่า RSD สามารถใช้เปรียบเทียบความแปรปรวนที่ระดับความเข้มข้นต่างกันได้ (ณัฐมา, 2547; Richardson, 1990) สำหรับค่า repeatability relative standard deviation คำนวณได้จากสูตร  $RSD_r = (s_r/\bar{X}) \times 100$  หมายความว่า  $RSD_r$  มีค่าเป็น 100 เท่าของค่า repeatability standard deviation ( $S_r$ ) หากออกด้วยค่าเฉลี่ย  $\bar{X}$  ของผลลัพธ์ทั้งหมดที่ใช้ประมาณค่า  $S_r$  ส่วนค่า  $RSD_R$  ก็มีหลักการคำนวณเช่นเดียวกัน คือคำนวณจาก  $S_R$  (Marshall and Peeler, 1992; Lynch and Barbano, 1996 ; 1997)

อย่างไรก็ตามสำหรับวิธีวิเคราะห์ไขมันนม เช่นวิธีมอจอนเนียร์ Bradley, Jr, (2000) ได้แนะนำค่าความแตกต่างระหว่างการวิเคราะห์ซ้ำได้สูงสุด คือ < 0.03% ไขมัน และรายงานค่าความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ด้วยวิธี Modified Mojonnier Ether Extraction Method ที่มี 3.6% ไขมัน เปรียบเทียบกับวิธีเดียวกันตามรายงานของ Helrich (1990) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 พารามิเตอร์ของความเที่ยงตรงสำหรับเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีการทางเคมี (วิธีมอจอนเนียร์)

วิธีวิเคราะห์	พารามิเตอร์					
	$S_r$	$S_R$	$RSD_r$ %	$RSD_R$ %	r	R
Mojonnier <sup>1</sup>	0.019	0.041	0.218	0.466	0.055	0.117
Modified Mojonnier <sup>2</sup>	0.015	0.020	0.396	0.512	0.044	0.056

ที่มา : <sup>1</sup> Helrich (1990); <sup>2</sup> Bradley, Jr, (2000)

### ค่าความแม่นยำ

ณัฐมา (2547) รายงานว่า ค่าความแม่นยำ หรือถูกต้อง (Accuracy) หมายถึง ค่าที่ได้จากการสอบเทียบวิธีวิเคราะห์ระหว่างวิธีวิเคราะห์ทางอ้อม ซึ่งมักหมายถึงการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ กับวิธีวิเคราะห์ทางเคมี ที่เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการอ้างอิง (reference method) หรือใช้ตัวอย่างมาตรฐาน (standard material) ซึ่งทราบค่าความเข้มข้นของพารามิเตอร์ที่แท้จริง สำหรับการวิเคราะห์หองค์ประกอบน้ำมัน ซึ่งเป็นวิธีทางอ้อม และวิธีอ้างอิง สามารถวัดความแม่นยำในรูปของค่าเฉลี่ยความแตกต่างของผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีที่ใช้เป็นวิธีอ้างอิง กับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ (the mean difference between chemical and instrumental results, MD) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแม่นยำ (standard deviation of the difference, SDD) ซึ่งคิดจากความแตกต่างของ 2 วิธีดังกล่าว มีสูตรในการคำนวณดังนี้

$D$  = ผลต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละตัวอย่างของผลการวิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐาน ( $Y_1 \dots n$ ) กับค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์โดยเครื่องอัตโนมัติ แบบ Mid - Infrared spectroscopic method ( $X_1 \dots n$ ) ดังตัวอย่างต่อไปนี้

$$D = \frac{Y_1 + Y_2 + \dots + Y_n}{n} - \frac{X_1 + X_2 + \dots + X_n}{n}$$

$n$  = จำนวนซ้ำในแต่ละตัวอย่างที่วิเคราะห์ (โดยทั่วไป คือ 2 หรือ 3 ซ้ำ)

$$MD = \sum D / N$$

$$SDD = [(\sum D^2 - (\sum D)^2 / N) / (N-1)]^{1/2}$$

$$\text{หรือ} = [\sum (D - MD)^2 / (N-1)]^{1/2}$$

$N$  = จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์

สำหรับความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Mid - Infrared Spectroscopic Method ซึ่งจัดเป็นเครื่องมืออัตโนมัติและได้รับการยอมรับจาก AOAC หมายเลข 972.16 เป็น First Action ในปี 1972 (Bradley, Jr, 2000) วัตถุประสงค์ในการวัดในรูปของค่าเฉลี่ยของความแตกต่างของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องดังกล่าวกับวิธีอ้างอิง (วิธีมอดจอนเนียร์) (Mean difference between instrumental estimates and values by reference methods) ต้องใช้ตัวอย่างอย่างน้อย 8 ตัวอย่าง มีค่าดังกล่าวไม่เกิน 0.05 เปอร์เซนต์ และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแม่นยำ (Standard deviation of the difference between instrument estimates and values by reference methods) ต้องมีค่าไม่เกิน 0.06 เปอร์เซนต์ จึงจะยอมรับได้ (Bradley, Jr, *et al.*, 1992; Bradley, Jr, 2000) นอกจากนี้ ฌีลุมมา (2547) รายงานว่า ความถูกต้องของการสอบเทียบ ถูกกำหนดไว้ว่าความสัมพันธ์ ระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีอ้างอิง ( $Y_i$ ) และค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ( $X_i$ ) ควรเป็นเส้นตรง และมีค่า slope เข้าใกล้ 1 มากที่สุด (ไม่แตกต่างทางสถิติ) และจุดตัดบนแกน Y (intercept) เริ่มจาก 0

### คุณสมบัติของไขมันนม

นมคิปประกอบด้วยไขมันนมซึ่งมีลักษณะเป็นอนุภาคเม็ดไขมัน (milk fat globules, MFGs) แขนงลอยในสภาพของอิมัลชัน (emulsion) ตามธรรมชาติ อนุภาคเม็ดไขมันนมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (diameter) เฉลี่ยประมาณ  $1 \times 10^{-4}$  นิ้วหรือมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.2 - 15 ไมครอน ( $\mu\text{m}$ ) ในน้ำนมโคโดยเฉลี่ยจะมีขนาด 2.5 - 5 ไมครอน และในนมหนึ่งลิตรประกอบด้วยเม็ดไขมันมีจำนวนประมาณ  $250 \times 10^6$  เม็ด (วรรณา, 2538; Walstra, 1995; Michalski *et al.*, 2001)

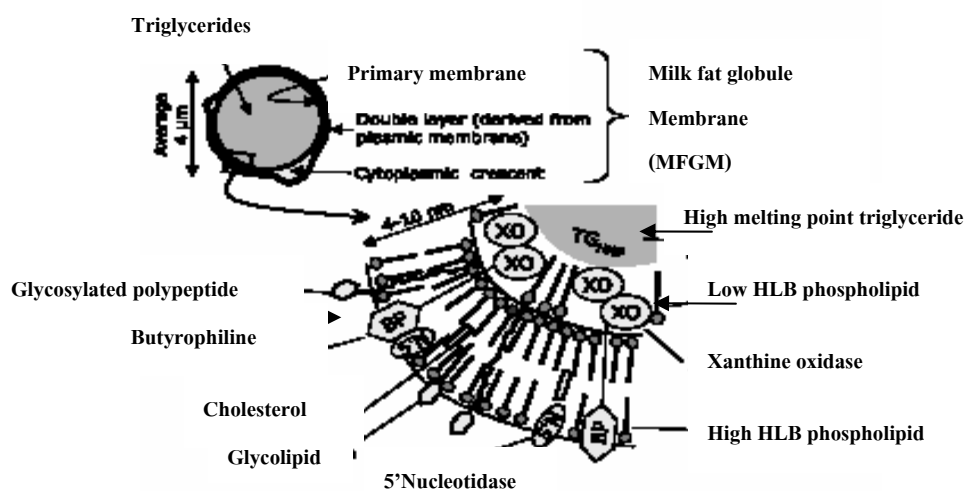
Wiking *et al.* (2004) รายงานว่า การสังเคราะห์ MFGs เกิดขึ้นในเซลล์ก้านสร้างน้ำนม (secretory cells) ของต่อมสร้างน้ำนม (mammary gland) วัตถุดิบหรือสารตั้งต้น (Precursor) ของ MFGs เกิดขึ้นที่ endoplasmic reticulum และส่งผ่านไปยัง cytosol ซึ่งมีลักษณะเป็นหยดไขมันขนาดเล็กห่อหุ้มด้วย non-bilayer coat ของ polar phospholipids และ โปรตีน ในระหว่างการเคลื่อนที่นั้น หยดไขมันมีขนาดใหญ่ขึ้น เนื่องจากเกิดการรวมตัวกันที่เรียกว่า droplet-droplet fusion และ ขณะเดียวกัน apical plasma membrane มีหยดไขมันซึ่งเกิดการหลั่งมาจาก epithelial cell ในระหว่างขั้นตอนการหลั่งนี้หยดไขมันถูกห่อหุ้มด้วย plasma membrane และขั้นตอนสุดท้ายถูกขับไปยัง milk channel ระดับไขมันในน้ำนม (fat content) ของสัตว์ต่างชนิดกันมีความแตกต่างกัน โดยโคนมมีระดับไขมัน 33 - 47 กรัมต่อลิตร กระบือมี 47 กรัมต่อลิตร แกะมี 40 - 99 กรัมต่อลิตร แพะมี 41 - 45 กรัมต่อลิตร ช้างมี 85 - 190 กรัมต่อลิตร ม้ามี 19 กรัมต่อลิตร สุกรมี 68 กรัมต่อลิตร และคนมี 38 กรัมต่อลิตร เป็นต้น นอกจากนี้องค์ประกอบของไขมันนมมีความผันแปรตามปัจจัยต่าง ๆ เช่น อาหาร ระยะเวลาการให้นม (stage of lactation) จำนวนครั้งของการให้นม (number of lactations) สายพันธุ์ของโค และฤดูกาล เป็นต้น องค์ประกอบหลักของไขมันในนมโค จัดเป็นประเภท ไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol) มีอยู่ประมาณ 97 - 98% ของไขมันทั้งหมด ที่เหลือจัดเป็นพวกได-โมโนเอซิลกลีเซอรอล (di-monoacylglycerols), โคลเลสเตอรอล เอสเตอร์ (cholesterol esters), ฟรีโคเลสเตอรอล (free cholesterol), กรดไขมันอิสระ (free fatty acid) และฟอสโฟลิพิด (phospholipids) เป็นเยื่อหุ้มของเม็ดไขมันนมซึ่งประกอบด้วยฟอสฟาติลโคลีน (Phosphatidylcholine) หรือ เลซิทีน (lecithin), ฟอสฟาติลเอทานอลามีน (Phosphatidylethanolamine) หรือ เซฟาลิน (cephalin) และ สฟิงโกไมอีลิน (sphingomyelin) จัดเป็นส่วนประกอบหลัก หรือ ฟอสฟาติลเซอรีน (phosphatidylserine), ฟอสฟาติลอินซิทอล (phosphatidylinositol) และ ไลโซฟอสโฟลิพิด (lysophospholipids) ซึ่งมีอยู่เพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบฮอร์โมนและวิตามินที่ละลายในไขมัน เช่น วิตามิน เอ ดี และอี (Christie, 1994) สำหรับองค์ประกอบของไขมันนมโค แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของไขมันนมโค

ประเภท	% น้ำหนักไขมันทั้งหมด	% โมล ของ lipid phosphorus
Triacylglycerols	97.5	
Fatty acids 4 : 0	3.3	
6 : 0	1.6	
8 : 0	1.3	
10 : 0	3.0	
12 : 0	3.1	
14 : 0	9.5	
16 : 0	26.3	
16 : 1	2.3	
18 : 0	14.6	
18 : 1	29.8	
18 : 2	2.4	
18 : 3	0.8	
C <sub>20</sub> - C <sub>22</sub>	Trace	
Diacylglycerols	0.36	
Monoacylglycerols	0.027	
Cholesterol esters	Trace	
Cholesterol	0.31	
Free fatty acids	0.027	
Phospholipids	0.60	
Phosphatidylcholine		34.5
Phosphatidylethanolamine		31.8
Sphingomyelin		25.2
Phosphatidylinositol		4.7
Phosphatidylserine		3.1
Lysophospholipids		0.8
Vitamin A ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	410	
Vitamin D ( $\text{IU l}^{-1}$ )	25	
Vitamin E ( $\text{mg l}^{-1}$ )	1	

ที่มา: ดัดแปลงจาก Christie (1994)

นอกจากนี้ Michalski *et al.* (2001, 2004) รายงานว่า ขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมโคปกติมีค่าเฉลี่ยประมาณ 4 ไมครอน ส่วนตรงกลางเป็นไตรเอสเทอร์ลิพิด ซึ่งถูกล้อมรอบโดยเมมเบรน (membrane) หรือเยื่อหุ้มที่มีประโยชน์ก่อให้เกิดความคงตัวและทำให้เกิดแรงตึงผิวของเม็ดไขมันนมมีค่าประมาณ  $1 - 1.5 \text{ mN m}^{-1}$  เรียกว่า milk fat globule membrane, MFGM โดยที่ MFGM เกิดขึ้นมาจากเซลล์ต้นกำเนิด (primary membrane) ภายในเซลล์ที่เรียกว่า secretory cell แล้วมีการรวมกับเมมเบรนของ apical cell ภายหลังการหลั่งออกมาแล้ว สำหรับ MFGM ประกอบด้วยเยื่อหุ้ม 3 ชั้น (complex trilayer membrane) มีความหนาประมาณ 4-10 นาโนเมตร (nm) พบว่ามีส่วนประกอบหลักได้แก่ phospholipids ที่มีลักษณะของพื้นผิวเป็นแบบ Low หรือ High hydrophilic-lipophilic balance, (HLB), ไกลโคลิพิด (glycolipids), โปรตีน, ไลโปโปรตีน (lipoproteins) และเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น แซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase, XO), แกมมา กลูตาไมลทรานสเปปติเดส ( $\gamma$ -glutamyl transpeptidase) และอัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase) เป็นต้น ส่วนประกอบทั้งหมดนี้ทำหน้าที่เพื่อคงสภาพให้แก่พื้นผิวอนุภาคเม็ดไขมันและป้องกันไตรเอสเทอร์ลิพิด ไม่ให้เกิดกระบวนการ lipolysis และ oxidation (Wiking *et al.*, 2003) ส่วนประกอบของอนุภาคเม็ดไขมันนมตามธรรมชาติ แสดงในภาพที่ 5

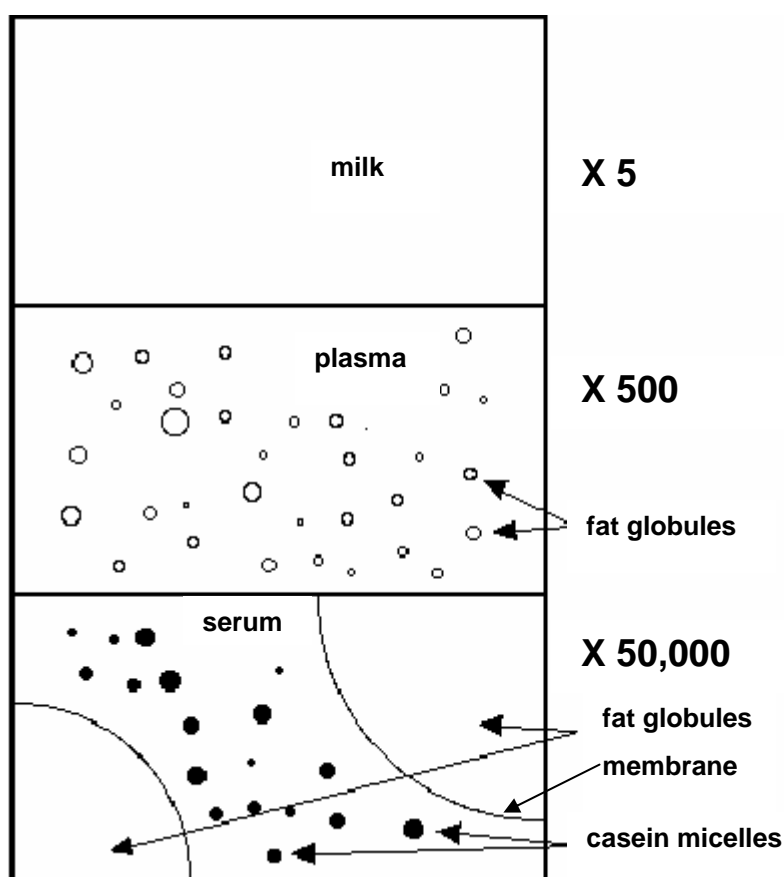


ภาพที่ 5 ส่วนประกอบของอนุภาคเม็ดไขมันนมตามธรรมชาติ

ที่มา: Michalski *et al.* (2001)

### การศึกษาขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม

Goff (1995) และ Walstra *et al.* (1999) ได้รายงานการศึกษาและสำรวจขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (5X) พบว่าน้ำนมมีลักษณะขุ่นและไม่มีความชัดเจนของเม็ดไขมันนม แต่เมื่อใช้กำลังขยายที่ 500 เท่า สังเกตพบว่าขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมมีลักษณะเป็นทรงกลม และเมื่อใช้กำลังขยายที่สูงขึ้นอีกเป็น 50,000 เท่า สังเกตพบเยื่อหุ้มเม็ดไขมันและเคซีนไมเซลล์ซึ่งเป็นโปรตีนในน้ำนม ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมเมื่อสำรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายต่างกัน  
ที่มา: ดัดแปลงจาก Goff (1995) และ Walstra *et al.* (1999)

Walstra (1995) รายงานว่า อนุภาคไขมันนมที่กระจายอยู่ทั่วไปในน้ำนมมี 3 ชนิดดังนี้

1.อนุภาคขนาดเล็ก (Small particle) มีประมาณ 80 เปอร์เซนต์ ของจำนวนเม็ดไขมันนม (globules) ทั้งหมดในน้ำนม โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 0.1 ไมครอน และมีปริมาณเป็นส่วนน้อยเท่านั้นในปริมาตรของไขมันนม (Fat volume)

2. อนุภาคขนาดกลาง (Main particle) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.1- 2.5 ไมครอน แต่มีปริมาณ 95 เปอร์เซนต์ในปริมาตรของไขมันนม

3.อนุภาคขนาดใหญ่ (Large globule) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 2.5 ไมครอน มีประมาณ 2 เปอร์เซนต์ในปริมาตรของไขมันนม

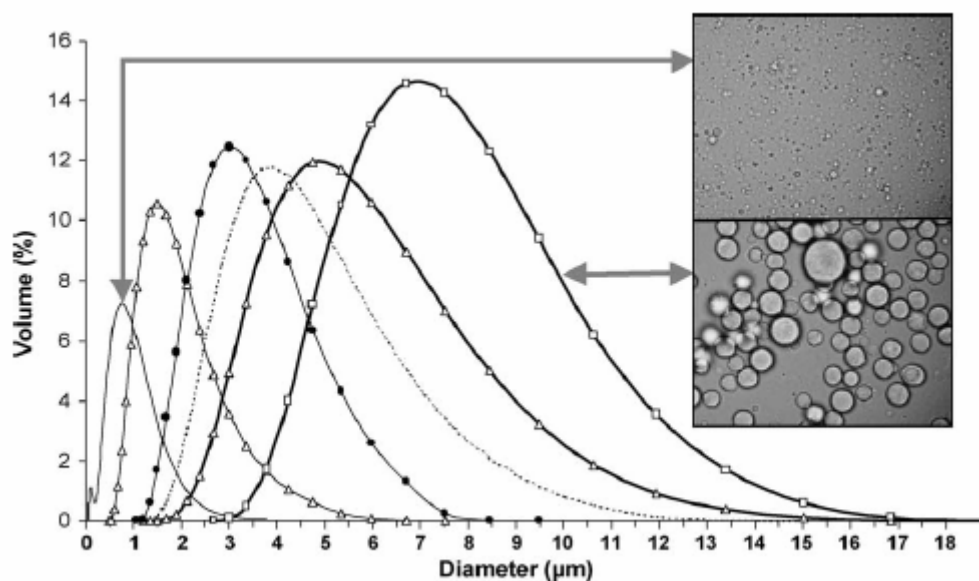
อย่างไรก็ตาม Walstra *et al.* (1999) รายงานถึง การกระจายตัวของอนุภาคเม็ดไขมันนม โดยศึกษาจากเส้นผ่านศูนย์กลาง (Volume surface average diameter,  $d_{vs}$ ) ซึ่งนิยมใช้กันมากเพราะมีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของไขมันนมที่กระจาย (dispersed fat) กับพื้นที่ผิวจึงจัดว่าเป็นพารามิเตอร์สำคัญที่ใช้ในการคำนวณปริมาตรของสาร หรือวัตถุที่ปกคลุมพื้นที่ผิวทั้งหมดของเม็ดไขมันนมด้วย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม (size distribution of fat globule) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ Mastersizer 2000 laser diffractometer ซึ่งใช้หลักการของ He-Ne laser ( $\lambda = 633 \text{ nm}$ ) โดยการพิจารณาค่า refractive index ของอนุภาคเม็ดไขมันนมและน้ำ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1.452 และ 1.330 ตามลำดับ และยังพบว่าการใช้ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของอนุภาคไขมันนมระหว่าง 0.001 ถึง 0.01 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ คุณลักษณะของการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม ศึกษาโดยใช้ค่า sauter diameter ( $d_{3,2}$ ) และ ค่า ( $d_{4,3}$ ) สามารถคำนวณได้ด้วยโปรแกรมจากคอมพิวเตอร์โดยใช้สูตร

$\sum n_i d_i^3 / \sum n_i d_i^2$  และ  $\sum n_i d_i^4 / \sum n_i d_i^3$  ตามลำดับ เมื่อ  $n_i$  คือ จำนวนของอนุภาคเม็ดไขมัน ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ  $d_i$

สำหรับค่า sauter diameter ได้มีการนำมาใช้ในการศึกษาการกระจายของอนุภาคเม็ดไขมันนมกันมากสำหรับเครื่องมือนี้เพราะสามารถใช้อ้างอิงเพื่อประเมินขนาด และการกระจายตัวของอนุภาคเม็ดไขมันนม อย่างไรก็ตามค่าดังกล่าวยังบ่งชี้ถึงการกระจายตัวที่กว้าง ซึ่งการกระจายตัวจะ

ประกอบด้วย ปริมาณเพียงเล็กน้อยของเม็ดไขมันขนาดใหญ่ หรือ กลุ่มไขมัน (fat cluster) ที่มีความไวต่อการเกิดครีม (Thiebaud *et al.*, 2003)

เมื่อไม่นานมานี้มีการศึกษาของ Michalski *et al.* (2004) รายงานว่า เมื่อทำการแยกอนุภาคเม็ดไขมันนมในตัวอย่างนมดิบด้วยวิธี Microfiltration ปรากฏว่าได้กลุ่มของ MFGs 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีขนาดเล็กซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-3 ไมครอน เรียกว่า Small fat globules, SFG และอีกกลุ่มมีขนาดใหญ่มากกว่า 5 ไมครอน เรียกว่า Large fat globules, LFG นอกจากนี้ยังศึกษาถึงปริมาณไขมันนมที่แยกออกมาจากตัวอย่างนมดังกล่าว (Fat percent in the Fraction) และเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคเม็ดไขมันนม พบว่านมดิบปกติมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 4 ไมครอน ส่วนตัวอย่างนมเดียวกันที่ผ่านวิธี Microfiltration จนได้ลักษณะเป็นแบบ SFG โดยมาจากนมที่แยกไขมันนมได้เท่ากับ 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.93 ไมครอน น้อยกว่าแบบ LFG ซึ่งมาจากนมที่แยกไขมันได้เท่ากับ 29.4 เปอร์เซ็นต์ และมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 7.34 ไมครอน ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 การกระจายตัวของอนุภาคเม็ดไขมันนมและภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากตัวอย่างนมดิบ

และนมที่ผ่านวิธี Microfiltration จนมีลักษณะเป็นแบบ SFG และ LFG

หมายเหตุ (—) SFG มีไขมันนม 1 เปอร์เซ็นต์ และมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.93 ไมครอน

(---) นมดิบปกติ มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 4 ไมครอน

(—□—) LGF มีไขมันนม 29.4 เปอร์เซ็นต์และมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 7.34 ไมครอน

ที่มา: ดัดแปลงจาก Michalski *et al.* (2004)

### ประโยชน์จากการศึกษาขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม

Eckles *et al.* (1973) รายงานว่า อนุภาคเม็ดไขมันนมไม่สามารถเห็นได้โดยตรงด้วยตา แต่สามารถเห็นได้โดยมองผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ จากการประเมินหยดน้ำมันเพียง 1 หยด มีค่าเฉลี่ยของอนุภาคเม็ดไขมันนมประมาณ  $1 \times 10^8$  เม็ด และระบุว่าโคพันธุ์เจอร์ซี (Jersey) และ เกิร์นซี่ (Guernsey) มีขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมใหญ่กว่าพันธุ์โฮลสไตน์ (Holstein) และ แอร์ชาयर (Ayrshire) นอกจากนี้รายงานในช่วงแรกของระยะการให้นม น้ำมันมีขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมใหญ่กว่าช่วงปลายของระยะการให้นม ประโยชน์และความสำคัญของการศึกษาขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนำมาประยุกต์เพื่อการแยกครีมนม (separation) การปั่นครีม (churning) และการผลิตเนยแข็ง (cheese making)

Gunasekaran and Ding (1999) รายงานถึง การใช้กล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลเลเซอร์ สแกนนิ่ง ไมโครสโคป (Confocal laser scanning microscopy) พร้อมด้วยคอมพิวเตอร์ที่มีโปรแกรมการวิเคราะห์ตัวอย่างจากภาพ (image analysis) เพื่อศึกษารูปปร่างลักษณะภาพสามมิติและสองมิติของอนุภาคเม็ดไขมันในผลิตภัณฑ์เนยแข็งที่เรียกว่า เชดด้าชีส (cheddar cheese) และประเมินคุณภาพของเชดด้าชีส พบว่าการประเมินด้วยภาพสามมิติให้รายละเอียดดีกว่าภาพสองมิติ และที่ระดับสามมิติ พบว่าชีสไขมันต่ำ (low fat) 13.9 เปอร์เซ็นต์ และชีสไขมันต่ำมาก (very low fat) 3.9 เปอร์เซ็นต์ มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันเท่ากับ 10.2 และ 5.7 ไมครอนตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน Michalski *et al.* (2003) อ้างโดย Wiking *et al.* (2004) ทำการศึกษาผลิตภัณฑ์เนยแข็งที่มีชื่อเรียกว่า Camembert cheese จาก MFGs ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 3 ไมครอน พบว่ามีความชื้น (moisture) ตลอดจนความยืดหยุ่นของเนื้อสัมผัส (elastic texture) มากกว่าเนยแข็งที่มาจากไขมันที่มี MFGs ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 6 ไมครอน

นอกจากนี้ Wiking *et al.* (2003) รายงานว่า การเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องของจำนวนเครื่องรีดนมแบบอัตโนมัติที่นำมาใช้ในฟาร์ม ทำให้คุณภาพของนมลดคุณค่าลง เนื่องจากความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid, FFA) ในน้ำมัน ซึ่งกรดไขมันอิสระ เกิดมาจากการกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของไตรเอซิลกลีเซอรอลโดยเอนไซม์ที่เรียกว่า ลิโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) นอกจากนี้ยังพบว่า กรดไขมันอิสระมีอยู่มากในนมที่มีอนุภาคเม็ดไขมันขนาดใหญ่ ขนาดของอนุภาคไขมันนมบ่งชี้ถึงอิทธิพลต่อคุณสมบัติความคงตัวของนม

เมื่ออนุภาคเม็ดไขมันนมมีขนาดที่ใหญ่ขึ้นส่งผลกระทบต่อกรรวมตัว (coalescence) และเกิดกระบวนการ lipolysis ได้ง่าย (Wiking *et al.*, 2004)

### การโฮโมจีไนเซชัน (Homogenization)

การแยกชั้นของไขมันนมในธรรมชาติสามารถอธิบายตามกฎของสโตค (Stoke's law) (Ma and Barbano, 2000) คือ เมื่อวางน้ำมันทิ้งไว้ อนุภาคเม็ดไขมันขนาดใหญ่ ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่าลอยตัวขึ้นขึ้นบนก่อนและมีความเร็วกว่าเม็ดไขมันที่มีขนาดเล็กกว่า และชั้นบนมีความเข้มข้นของไขมันมากกว่า กระบวนการนี้โดยทั่วไปเรียกว่า การเกิดครีม ซึ่งปรากฏเมื่อเก็บนมไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส ส่วนมากเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เป็นเพราะว่าไขมันนมมีความหนาแน่นต่ำกว่าส่วนที่เรียกว่า milk serum จึงมีแนวโน้มของอนุภาคไขมันนมลอยสูงขึ้นภายใต้อิทธิพลของแรงโน้มถ่วงของโลก หรืออาจเรียกว่า น้ำหนัก (gravity) ด้วยอัตราความเร็ว ( $v$ ) ซึ่งเป็นไปตามกฎของ Stokes ดังนี้ (Huppertz *et al.*, 2003)

$$v = \alpha (\rho_p - \rho_f) d^2 / 18 \eta_p$$

เมื่อ  $\alpha$  คือ การเร่ง (acceleration) เนื่องจากแรงโน้มถ่วง

$d$  คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคเม็ดไขมัน

$\rho_p$  คือ ค่าความหนาแน่นของ plama

$\rho_f$  คือ ค่าความหนาแน่นของ ไขมัน

$\eta_p$  คือ ค่าความหนืดของ plama

นอกจากนี้ ปรียา (2524) รายงานว่า การที่ไขมันเกาะกันเป็นก้อนเรียกว่า agglutinin (เนื่องจากปฏิกิริยาล้ำกับปฏิกิริยาการรวมตัวในเลือด) โกลบูลินของโปรตีนเวย์ที่ทำให้ไขมันเกาะติดกันนี้เรียกว่า euglobulin ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ IgM อิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulins) agglutinins บางตัวยังมีการแสดงออกแบบ cryoprecipitation ตัวอย่างเช่น ตกตะกอนที่อุณหภูมิประมาณ 15 องศาเซลเซียส โปรตีนประเภทนี้เรียกว่า cryoglobulins (Walstra *et al.*, 1999) เป็นไปในทำนองเดียวกับ Huppertz *et al.* (2003) รายงานว่าในการเกิดครีมอาจเกิดเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของกลุ่มก้อน (clusters) ของอนุภาคเม็ดไขมันนมในภาวะที่เย็นลง ตัวอย่างเช่นการเกิด cold agglutination ตัวแปรที่สำคัญ คือ โปรตีนใน cold agglutination พบว่า IgM มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular mass) เท่ากับ 900 kDa ซึ่งประกอบด้วย 5 หน่วยย่อย แต่ละหน่วยมีโครงสร้าง

พื้นฐานเหมือนกับ immunoglobulin G, IgG และมี 10 active sites เพื่อใช้ในการจับกับ cold agglutination อย่างไรก็ตามในกระบวนการผลิตของผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด อาทิเช่น นม ช็อกโกแลต นมสเตอริไลส์ หรือแม่แต่นมพร้อมดื่ม มักจะเกิดปัญหาจากการแยกตัวของไขมันทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีความไม่สม่ำเสมอ ซึ่งปัญหาดังกล่าวนี้สามารถแก้ไขได้โดยใช้การโฮโมจีไนเซชัน(นรินทร์, 2531)

### หลักการของการโฮโมจีไนเซชัน

โฮโมจีไนเซชันหรือโฮโมจีไนส์ (Homogenize) หมายถึง การที่ไขมันในน้ำนมถูกทำให้มีขนาดเล็กลง และมีความสม่ำเสมอ หรือมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 1 ไมครอน เมื่อผ่านเครื่องโฮโมจีไนส์เซอร์ (Homogenizers) (วิพิชญ์, 2541; Tetra Pak Processing, 1995; Michalski *et al.*, 2002) การลดขนาดอาจเล็กลงถึง 10 เท่า จากการที่มีโมเลกุลเล็กลงนี้ มีผลทำให้ไขมันในน้ำนมไม่มีการลอยตัว จึงช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์มีความอยู่ตัวสูงขึ้น นมโฮโมจีไนส์ จึงหมายถึง นมที่มีเม็ดไขมันขนาดเล็ก ๆ หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40 หรือ 45 องศาฟาเรนไฮต์ (4 – 7 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง ไม่มีชั้นของครีมเกิดขึ้น เปรอร์เซ็นต์ไขมันนมส่วนบน 100 มิลลิลิตร ในนม 1 ลิตร แตกต่างจากส่วนนมที่เหลือได้ไม่เกิน 10 เปรอร์เซ็นต์ (ปรีชา, 2524; วรรณ และวิบูลย์ศักดิ์, 2531; Trout, 1950; Tetra Pak Processing, 1995)

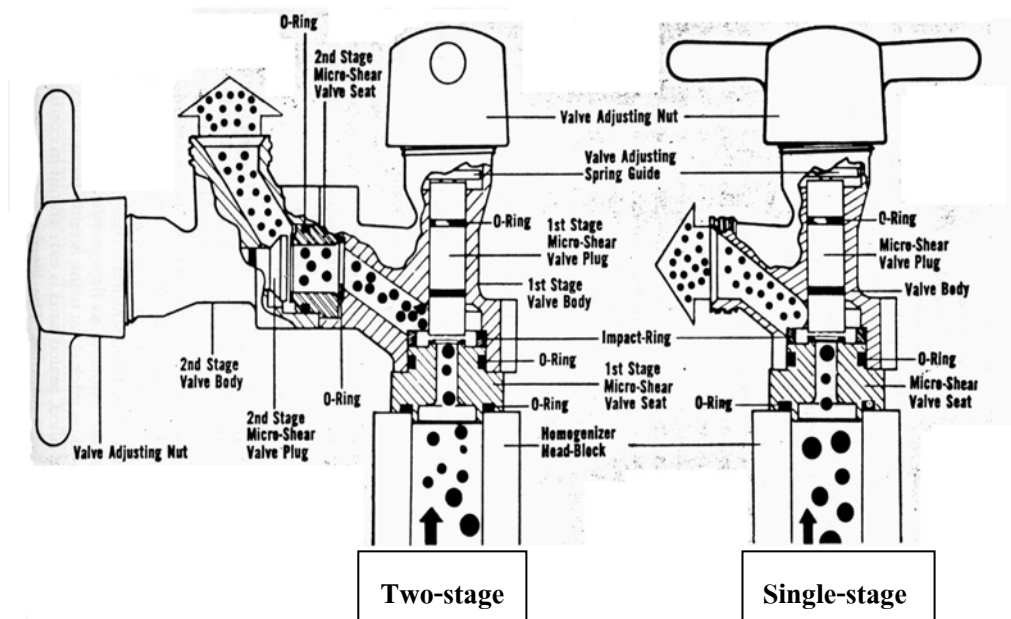
Thiebaud *et al.* (2003) รายงานว่า การโฮโมจีไนส์ด้วยความดันระดับที่เหมาะสมซึ่งมีค่าประมาณ 200 – 500 bar ใช้กันอย่างกว้างขวางในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์นม เพื่อลดขนาดของอนุภาคเม็ดไขมันนม (milk fat globules sizes) จากนมปกติที่มีขนาดประมาณ 1-8 ไมครอน ลดลงเหลือ 0.3 – 0.8 ไมครอน สามารถป้องกันการเกิดครีม และการรวมตัวเป็นก้อน ในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังรายงานว่าในขั้นตอนการโฮโมจีไนส์โดยทั่วไป ต้องให้ความร้อนแก่นมก่อน (preheated) ที่อุณหภูมิ 60 - 70 องศาเซลเซียส แล้วใช้ความดันระดับดังกล่าว ต้องผ่านส่วนที่เรียกว่า โฮโมจีไนเซชันวาล์ว (homogenization valve) ซึ่งเป็นช่องแคบ ๆ อย่างรวดเร็ว ด้วยอาศัยหลักการอัตราการไหลอย่างรวดเร็วและแรงตัดผ่าน (shear) รวมทั้งการเกิด cavitation ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญทางฟิสิกส์ทำให้เม็ดไขมันแตกออกจากกัน ด้วยพลังงานที่เกิดจากความดันเคลื่อนที่ไปยังของเหลวจึงสามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นความร้อนเกิดขึ้นเพิ่มเป็น 2.5 องศาเซลเซียส ต่อความดัน 100 bar นอกจากนี้ Tetra Pak Processing (1995) รายงานว่า อุณหภูมิที่ใช้สำหรับการโฮโมจีไนส์มีบทบาทต่อการเกิดเม็ดไขมันด้วย ถ้าอุณหภูมิสูงจะเกิดเป็นเม็ดเล็กลง ปกติใช้อุณหภูมิ

ประมาณ 55 – 80 องศาเซลเซียสที่ความดัน 10 และ 25 MPa (100-250 bars) ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ ระบบโฮโมจิไนเซชันอาจทำได้ 2 ลักษณะ คือ การโฮโมจิไนส์ทั้งหมด (full stream or total homogenisation) ใช้กับการผลิตผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว (yoghurt) ในการโฮโมจิไนส์ทั้งหมดนี้มักใช้น้ำนมที่มีปริมาณไขมันน้อย จึงไม่เกิดการจับตัวเป็นกลุ่มเม็ดไขมัน เรียกว่า น้ำนมไมโครไนซ์ (Micronized milk) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีการเกิดชั้นครีม (cream line) แต่ถ้าน้ำนมที่มีปริมาณไขมันสูง หรือการโฮโมจิไนส์ครีม ซึ่งมีปริมาณไขมันสูง จะทำให้เกิดลักษณะที่เรียกว่า วิสโคไลซ์ (Viscolized) ซึ่งทำให้น้ำนมมีการแยกเป็นชั้นครีมขึ้นในผลิตภัณฑ์ (นรินทร์, 2531) สำหรับการโฮโมจิไนส์อีกลักษณะคือการโฮโมจิไนส์บางส่วน (partial homogenization) ใช้กับผลิตภัณฑ์นมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไป (Tetra Pak Processing, 1995)

เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ที่มีประสิทธิภาพ ต้องมี 2 ขั้นตอนไปนี้ (ปรียา, 2524; วรรณ และ วิบูลย์ศักดิ์, 2531; Trout, 1950; Marijana, 1994; Tetra Pak Processing, 1995)

1. Single-stage (one-stage) homogenizer เป็นเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ที่มีลิ้นหรือ วาล์วชุดเดียว มักใช้ความดันขนาด 2,500 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (lb/in<sup>2</sup>, psi) ประสิทธิภาพการทำงาน ใช้สำหรับกรณีที่มีน้ำนมไม่มากนัก น้ำนมที่ได้มีแนวโน้มที่จะรวมกันได้อีก จึงใช้กับผลิตภัณฑ์นมที่มีระดับไขมันต่ำและผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความหนืดสูง

2. Two-stage หรือ Double-stage เป็นเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ที่มีประสิทธิภาพสูง ประกอบด้วยลิ้นจำนวนสองชุด ลิ้นชุดแรก (first-stage) ใช้ความดัน 2,000 - 2,500 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว น้ำนมที่ออกจากลิ้นชุดแรกจะผ่านลิ้นชุดที่สอง (second-stage) ซึ่งใช้ความดัน 500 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ประสิทธิภาพของการทำงานใช้สำหรับผลิตภัณฑ์นมมีไขมันสูง มีข้อดีกว่า Single-stage คือ หลังจากโฮโมจิไนส์แล้วเม็ดไขมันจะแตกกระจายไม่รวมตัวกันเป็นกลุ่มเม็ดไขมัน น้ำนมที่ได้จัดเป็นน้ำนมไมโครไนซ์ ไม่หนืดเหมือนกับใช้เครื่อง Single-stage สำหรับส่วนประกอบของเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ทั้งสองแบบ แสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 ส่วนประกอบของเครื่องโฮโมจีไนส์แบบ Single-stage และ Two-stage  
ที่มา: Marijana (1994)

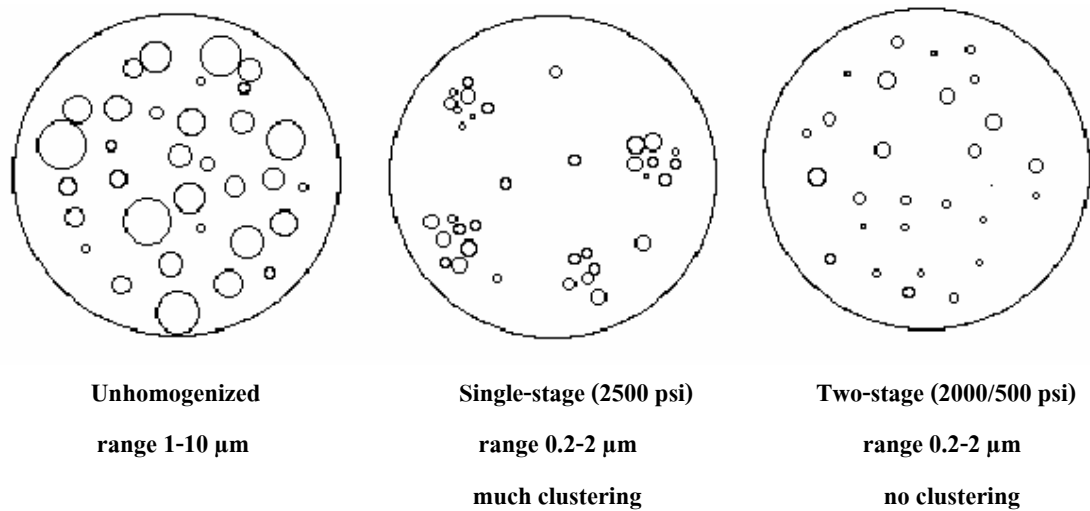
Marijana (1994) รายงานถึง เครื่องโฮโมจีไนส์ แบบ Two-stage ว่ามีการใช้ความดันของ วาล์วที่หนึ่งสูงกว่าวาล์วที่สอง และพบว่ามีเหมาะสมเป็นอย่างยิ่งต่อการป้องกันการรวมกลุ่ม เม็ดไขมันที่จะเกิดขึ้นใหม่ ทั้งนี้สามารถควบคุมความดันจากวาล์วที่หนึ่งก่อนแล้วตามด้วยการใช้ ความดันจากวาล์วที่สอง เช่นเดียวกับ Hayes and Kelly (2003) รายงานว่า การโฮโมจีไนส์แบบสอง ขั้น (Two-stage homogenization) ด้วยความดัน 180 – 200 bar (2,500-3,000 psi) มีการใช้กันอย่าง แพร่หลายสำหรับอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นมในปัจจุบัน เพื่อป้องกันการเกิดชั้นครีมในระหว่างการ เก็บรักษานม ในระหว่างการโฮโมจีไนส์นมเม็ดไขมันถูกทำให้แตกออก จากปกติที่มีขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลางเม็ดไขมันนมประมาณ 1 – 10 ไมครอน ลดลงเหลือประมาณ 1 ไมครอนหรือต่ำกว่านี้ อย่างไรก็ตามการโฮโมจีไนส์นมทำให้ขนาดของเม็ดไขมันนมเปลี่ยนแปลงภายหลังผ่านการโฮโมจี- ไนส์ภายใต้ความดันต่างกัน ทั้งแบบ Single-stage และ Two-stage homogenizers แสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 9

ตารางที่ 4 ช่วงและค่าเฉลี่ยของขนาดเม็ดไขมันนม (ไมครอน) ภายหลังจากโฮโมจีไนส์ภายใต้ความดันต่างกันโดยใช้เครื่อง Single-stage และ Two-stage homogenizers

ความดันรวม (lb/in <sup>2</sup> , psi)	Single-stage		Two-stage				
	Range <sup>3</sup>	Range <sup>4</sup>	Average <sup>1</sup> , range <sup>2</sup>	Average	Range <sup>4</sup>	Average <sup>5</sup>	Average <sup>6</sup>
0		1-10	4	3.70	1-10	4	3.35
500	1-14					1.25	
1,000	1-7		1-4	1.68			
1,500	1-4					0.69	
2,000	1-3		1-2	1.08			
2,500	1-3	0.2-2			0.2-2		0.73
3,000	0.5-2		0.70	0.76		0.38	

ที่มา : <sup>1</sup>ปรียา (2524); <sup>2</sup>วรรณภา และวิบูลย์ศักดิ์ (2531); <sup>3</sup>วิพิชญ์ (2541); <sup>4</sup>Goff (1995);

<sup>5</sup>Michalski *et al.* (2002); <sup>6</sup>Hayes and Kelly (2003)



**ภาพที่ 9** การกระจายตัวของเม็ดไขมันนมที่เกิดจากโฮโมจีไนส์แบบ Single-stage และ Two-stage  
 สํารวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสง

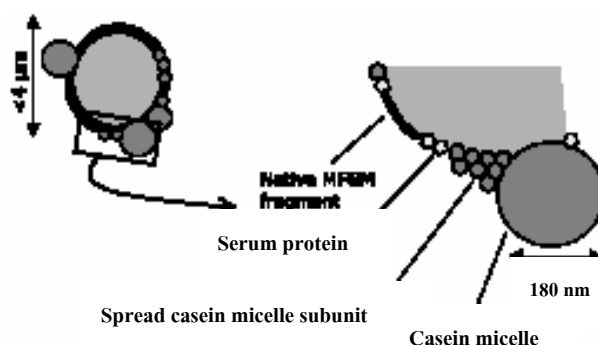
ที่มา: ดัดแปลงจาก Goff (1995)

#### หัวโฮโมจีไนส์ (Homogenization head)

ส่วนที่สำคัญของระบบโฮโมจีไนส์ในเซชัน คือ หัวโฮโมจีไนส์ ซึ่งอุปกรณ์ดังกล่าวอาจเรียกว่า วาล์ว (Homogenizing valve) ช่วยให้มีประสิทธิภาพในการโฮโมจีไนส์สูงและใช้มอเตอร์กำลังน้อย น้ำนมถูกดันให้ผ่านหัวโฮโมจีไนส์ด้วยความดันสูง ทำให้ไขมันนมมีขนาดเล็กลง ส่วนประกอบที่สำคัญคือ ภาชนะลักษณะทรงกระบอก และมีแกนสวมลงไป แกนนี้มีตัวควบคุมให้แน่นหรือหลวมได้ตามต้องการ ถ้าต้องการให้ได้เม็ดไขมันขนาดเล็กต้องขันแกนนี้ให้แน่นเข้า แรงที่ใช้อัดต้องสูงขึ้นด้วย สำหรับความกว้างของช่องที่ไขมันจะผ่านออกมา (gap) มีค่าประมาณ 0.1 มิลลิเมตร หรือมีความกว้างเป็น 100 เท่า ของขนาดเม็ดไขมันนมภายหลังจากที่ผ่านการโฮโมจีไนส์แล้ว (ปรีชา, 2524; นรินทร์, 2531; Marijana, 1994; Tetra Pak Processing, 1995)

### ผลของการโฮโมจีไนเซชัน

Trout (1950) รายงานว่า ขนาดอนุภาคไขมันลดลงเมื่อนมผ่านการโฮโมจีไนส์ และจำนวนของอนุภาคเม็ดไขมันเพิ่มขึ้น 125 เท่า หรือเพิ่มขึ้นจาก  $3.0 \times 10^9$  เป็น  $3.75 \times 10^{11}$  ต่อปริมาตรนมหนึ่งมิลลิลิตร พื้นที่ผิวอนุภาคเม็ดไขมันเพิ่มขึ้นจากเดิมประมาณ 5 หรือ 6 เท่า นอกจากนี้ยังระบุว่านมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์แล้วมีความหนืด (viscosity) สูงกว่านมที่ไม่ผ่านการโฮโมจีไนส์ ทั้งนี้สาเหตุมาจากเคซีนถูกดูดซับได้มากขึ้น จึงส่งผลให้เกิดการเพิ่มพื้นที่ผิวของอนุภาคเม็ดไขมันนม โดยทั่วไปนมปกติมีเคซีนทั้งหมดประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ที่บริเวณผิวของเม็ดไขมันนม แต่เพิ่มขึ้นเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ถูกดูดซับไปยังบริเวณเม็ดไขมัน เรียกว่า resurfaced ในทำนองเดียวกัน Michalski *et al.* (2001) รายงานว่า พื้นที่ผิว (interfacial area) ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ MFGM ไม่สามารถปกคลุมอนุภาคไขมันนมได้ตลอดทั้งหมด ฉะนั้นจึงทำให้ เคซีนไมเซลล์ และโปรตีนเวย์ (บางครั้งเรียกว่า plasma proteins) ถูกดูดซับไปยังพื้นผิวของเม็ดไขมัน ดังนั้นผลที่ตามมาจากการทำลายเมมเบรน คือ ความไม่สม่ำเสมอของ MFGM และ plasma proteins ที่มีอยู่เดิม สภาพใหม่ที่เรียกว่า new artificial membrane เกิดขึ้นเกือบทั้งหมดของ plasma proteins ประมาณ 3/4 เริ่มปกคลุมโดย เคซีน และเกิดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้นถึง  $15 \text{ mN m}^{-1}$  สอดคล้องกับ Hayes and Kelly (2003) รายงานว่า พื้นที่ผิวที่เกิดขึ้นใหม่ของอนุภาคเม็ดไขมันนมเพิ่มขึ้นประมาณ 5 – 10 เท่า ทั้งนี้เพื่อความคงตัวของพื้นผิวใหม่นี้จึงทำให้เกิดการดูดซับโปรตีนนมได้แก่ เคซีน และ โปรตีนเวย์ไว้ด้วย นอกจากนี้ micellar fragments ที่เกิดขึ้นในระหว่างการโฮโมจีไนส์ของหางนม (skim milk) เป็นไปอย่างรวดเร็ว และเป็นส่วนช่วยในการสร้างรูปแบบให้มีโครงสร้างเดิม (original form) ดังแสดงในภาพที่ 10



ภาพที่ 10 โครงสร้างใหม่ของอนุภาคเม็ดไขมันนมภายใต้การโฮโมจิไนส์  
ที่มา: Michalski *et al.* (2001)

อย่างไรก็ตามการโฮโมจิไนส์น้ำนมมีผลต่อสมบัติของน้ำนมทั้งทางเคมีและกายภาพหลายประการ (Trout, 1950; Tetra Pak Processing, 1995; Walstra *et al.*, 1999) ดังนี้

ผลดีของการโฮโมจิไนส์น้ำนม

1. ทำให้มีการกระจายของไขมันดีขึ้น ไม่มีการแยกชั้นของครีม
2. มีลักษณะสีขาวมากขึ้น ทำให้น้ำรับประทานขึ้น มีรสชาติดีขึ้น
3. ทำให้การตกตะกอนโดยน้ำย่อยเรนเนทได้เร็วขึ้น
4. มีความคงตัวที่ดีกว่าในผลิตภัณฑ์นมเติมจุลินทรีย์ (cultured milk products)

ผลเสียของการโฮโมจิไนส์น้ำนม

1. ถ้ามีการแยกครีมออกจากน้ำนมจะทำให้โฮโมจิไนส์ยากขึ้น
2. น้ำนมโฮโมจิไนส์ทำปฏิกิริยากับแสงแดดได้ดี ทำให้รสชาติเสียไป
3. ทำให้น้ำย่อยไลเปสทำงานได้ดีขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงสู่ lipolysis
4. ทำให้โปรตีนมีความคงตัวต่ออุณหภูมิสูงน้อยลงในกระบวนการสเตอริไลส์

น้ำนม จำเป็นต้องโฮโมจิไนส์ทีหลังเพราะถ้าทำก่อนอาจทำให้มีการตกตะกอนของโปรตีนในกระบวนการนี้ได้

### การประเมินประสิทธิภาพของการโฮโมจีไนเซชัน

Trout (1950) รายงานว่าการใช้กล้องจุลทรรศน์เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพของการโฮโมจีไนส์นม การใช้กล้องจุลทรรศน์สามารถตรวจสอบอนุภาคเม็ดไขมันนมที่ถูกทำให้แตกออกจากกันได้โดยเปรียบเทียบกับนมที่ไม่ผ่านการโฮโมจีไนส์ วิธีนี้เป็นการทดสอบที่เรียกว่า Farral index ซึ่งมีหลักการในการตรวจสอบขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยนับจำนวนของอนุภาคเม็ดไขมันนมที่มีขนาดเกิน 2 ไมครอน ในจำนวน 5 field แล้วนำมาคำนวณตามดัชนี (index) ซึ่งต้องมีค่าไม่เกิน 40 จึงถือว่าการโฮโมจีไนส์มีประสิทธิภาพที่ดี นอกจากนี้ยังมีวิธีอื่น เช่น วิธีการของ The United States Public Health, USPH คือ การเก็บรักษานมปริมาตร 1 ลิตร ภายหลังจากผ่านการโฮโมจีไนส์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดเปอร์เซ็นต์ไขมันนมส่วนบนที่มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาหักด้วยเปอร์เซ็นต์ไขมันนมส่วนที่เหลือทั้งหมดคำนวณตามสูตรต้องไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ จึงถือว่ามีประสิทธิภาพการโฮโมจีไนส์ที่ดี (Trout, 1950; Tetra Pak Processing, 1995; Ertugay *et al.*, 2002)

อย่างไรก็ตามยังมีวิธีการอื่น ตัวอย่างเช่น การเปรียบเทียบการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมก่อนและหลังการโฮโมจีไนส์โดยวิธี Laser Light Scattering (LLS) หรือวิธีการใหม่ เช่น วิธี electrokinetic potential หรือ apparent  $\zeta$ -potential ใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงกลไกการทำลาย MFGM สำหรับการให้ค่า apparent  $\zeta$ -potential เป็นเครื่องมือในการศึกษาการทำลายอนุภาคเม็ดไขมันนมจากนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ หรือใช้เพื่อตรวจสอบเคซีนไมเซลล์ที่ปกคลุมพื้นที่ผิวที่เกิดขึ้นใหม่ได้ ซึ่งมีค่า apparent  $\zeta$ -potential สำหรับตัวอย่างอนุภาคเม็ดไขมันนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ที่ความดันต่างกันเท่ากับ -17 ถึง -21.6 mV (Michalski *et al.*, 2001)

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. ตัวอย่างนมสำหรับงานวิจัย เป็นตัวอย่างนมดิบที่เก็บจากช่องบรรจุนมบนรถบรรทุก และถังรวมนม ของศูนย์ผลิตภัณฑ์นมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ ก่อนเก็บตัวอย่างนมจากช่องบรรจุนมบนรถบรรทุกต้องมีการกวนตัวอย่างนมให้มีการเข้ากันดี โดยใช้พลังเจอร์ (plunger) และสำหรับตัวอย่างนมในถังรวมนมต้องกวนด้วยเครื่องกวน (agitators) ของถังนม
2. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง ได้แก่ พลังเจอร์ (plunger) ดิปเปอร์ (dipper) และภาชนะบรรจุตัวอย่างนม เช่น ขวดเก็บตัวอย่าง
3. อุปกรณ์ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างนมและตรวจวัดอุณหภูมิ ได้แก่ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) และ เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงที่มีอุปกรณ์เสริม ได้แก่ กล้องถ่ายภาพ คอมพิวเตอร์พีซีที่มีโปรแกรมวิเคราะห์ด้วยภาพ (image analysis) และซีดีรอมหรือดิสเกตสำหรับเก็บบันทึกข้อมูล
5. เครื่องวิเคราะห์ห้องค์ประกอบในน้ำนมระบบอัลตราโซนิค (Ultrasonic Milk Analyzers) Ekomilk-Model M และ Ekomilk-Model Ultra (Eon Trading, 2001)
6. เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizers) Model APV 1000, (APV Homogenizers AS, Albertslund, Denmark)
7. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ไขมันนมตามวิธีมอจอนเนียร์ (Mojonnier)
8. อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับใช้เตรียมสไลด์ตัวอย่างนมก่อนตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ด้วยวิธีการวิเคราะห์ค่า Size Distribution ของเม็ดไขมันในน้ำนมตามวิธีดัดแปลงจาก Trout (1950); Sahai and Jackson (1996); Sriroth *et al.* (1999)

## วิธีการ

งานวิจัยครั้งนี้แบ่งเป็น 4 การทดลอง ดังนี้

### การทดลองที่ 1: การประเมินประสิทธิภาพการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก

เนื่องจากเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ได้ปรับค่ามาตรฐาน (calibration) จากโรงงานผู้ผลิตในต่างประเทศ การอ่านค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบในประเทศ อาจมีความจำเป็นต้องปรับค่ามาตรฐานใหม่ ทั้งนี้ การปรับมาตรฐานต้องใช้ตัวอย่างนมดิบมาวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมัน ตัวอย่างเช่น ปริมาณไขมัน(%) ควรปรับเมื่อสังเกตว่าค่าดังกล่าวที่วัด ไม่ได้อยู่ในช่วงที่กำหนดไว้ วิธีการก็นำตัวอย่างนมดิบมาหาค่าปริมาณไขมันโดยใช้วิธีมาตรฐาน แล้วนำตัวอย่างนมดิบชนิดเดียวกันมาทดสอบโดยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ประมาณ 2-3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย แล้วเปรียบเทียบกัน หากค่าที่แตกต่างยังอยู่ในช่วง  $\pm 0.1\%$  ไม่จำเป็นต้องปรับค่า แต่หากมีค่าเกินหรือน้อยกว่าค่าดังกล่าวต้องปรับค่าใหม่ (Eon Trading, 2001) ทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ไขมันนมก่อนและหลังปรับมาตรฐานเครื่องมือ ตลอดจนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราซ้ำ ( $S_p$ ), อัตราซ้ำ (r-value) และ ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (RSD<sub>p</sub>) ซึ่งใช้เป็นค่าพารามิเตอร์ทางสถิติวัดความเที่ยงตรงของเครื่องมือดังกล่าวกับวิธีมอจอนเนียร์ซึ่งเป็นวิธีทางเคมีที่ใช้อ้างอิง และได้รับการยอมรับว่ามีความแม่นยำ เนื่องจากให้ผลที่ถูกต้องสูง (Bradley Jr, *et al.*, 1992)

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ก่อนและหลังปรับมาตรฐานเปรียบเทียบกับวิธีมอจอนเนียร์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ก่อนและหลังปรับมาตรฐานเปรียบเทียบกับวิธีมอจอนเนียร์

#### 1.1.1 การวางแผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลอง Randomized Complete Block Design, RCBD เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยโดยมีแบบหุนการวิเคราะห์ ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \rho_i + \tau_j + \varepsilon_{ij}$$

เมื่อ

$$Y_{ij} = \text{ค่าสังเกตจากบล็อกที่ } i, \text{ ทรีทเมนต์ } j$$

$$\mu = \text{ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง}$$

$$\rho_i = \text{อิทธิพลของบล็อก คือ ตัวอย่างนมในแต่ละครั้งที่สุ่มเก็บ}$$

$$\tau_j = \text{อิทธิพลของวิธีการวิเคราะห์ไขมันนม คือ วิธีอัลตราโซนิก, มิลค์อะนาไลเซอร์, โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตรา, วิธีมอจอนเนียร์}$$

$$\varepsilon_{ij} = \text{Random error และ } \varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \infty)$$

### 1.1.2 การเก็บข้อมูล

1.1.2.1 เก็บตัวอย่างนมดิบจากช่องบรรจุนมบรรทุก จากศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เพื่อวิเคราะห์ไขมันนมตามวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ และวิธีมอจอนเนียร์โดยแบ่งเป็น 2 ช่วง ดังนี้

ช่วงที่ 1 ก่อนปรับมาตรฐานเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ จำนวน 9 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1,000 มิลลิลิตร เก็บ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 ตัวอย่าง (จากช่องบรรจุนมบรรทุก)

ช่วงที่ 2 หลังปรับมาตรฐานเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ จำนวน 18 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1,000 มิลลิลิตร เก็บ 18 ครั้ง ครั้งละ 1 ตัวอย่าง (จากช่องบรรจุนมบรรทุก 17 ครั้ง และนมดิบรายตัวจากฟาร์มของโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา 1 ครั้ง)

1.1.2.2 ตัวอย่างนมดิบในช่วงที่ 1 ผสมให้เข้ากันดีแล้ว แบ่งใส่ขวดเก็บตัวอย่าง จำนวน 3 ขวด ขวดละเท่า ๆ กัน ประมาณ 320 มิลลิลิตร

1.1.2.3 ตัวอย่างนมดิบในช่วงที่ 2 ผสมให้เข้ากันดีแล้ว แบ่งใส่ขวดเก็บตัวอย่าง จำนวน 3 ขวด ขวดละเท่า ๆ กัน ประมาณ 320 มิลลิลิตร และแบ่งตัวอย่างนมดิบที่เหลือไว้เพื่อใช้ในการทดลองที่ 2

1.1.2.4 ช่วงที่ 1 ก่อนปรับมาตรฐานเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ตัวอย่างนมดิบในขวดเก็บตัวอย่างทั้ง 3 ขวด แบ่งเป็นกลุ่ม 3 กลุ่ม กลุ่มละ 2 ซ้ำ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 วิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม

กลุ่มที่ 2 วิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา

กลุ่มที่ 3 วิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจอนเนียร์

1.1.2.5 วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ไขมันนมจากเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม โมเดลอัลตรา และวิธีมอจอนเนียร์แล้วบันทึกผล

1.1.2.6 ช่วงที่ 2 หลังปรับมาตรฐานเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 1.1.2.4 - 1.1.2.5 โดยต้องนำข้อมูลค่าเฉลี่ยความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ระหว่างเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม กับวิธีมอจอนเนียร์ และโมเดลอัลตรากับวิธีมอจอนเนียร์ มาเปรียบเทียบและปรับมาตรฐานของเครื่องมือดังกล่าวแล้ว

### 1.1.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Cody and Smith, 1997) เพื่อหาค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไขมันนม จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือทั้ง 2 โมเดลและวิธีมอจอนเนียร์ รวมทั้งคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ทางสถิติที่บ่งชี้ถึงความเที่ยงตรง ของการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้แก่ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดซ้ำ (repeatability standard deviation,  $S_r$ ) อัตราซ้ำ (repeatability value, r-value) และ ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (repeatability relative standard deviation, RSD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแปรปรวน พารามิเตอร์ความเที่ยงตรงทั้ง 3 โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test รวมทั้งเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างประชากรสองกลุ่มอิสระของพารามิเตอร์ความเที่ยงตรงทั้ง 3 ระหว่างก่อนและหลังปรับมาตรฐานของเครื่องมือ โดยใช้ Paired comparison t-test for the means (Cody and Smith, 1997)

การทดลองที่ 1.2 ศึกษาสมการถดถอยและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของระดับไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิคกับวิธีมอจอนเนียร์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสมการถดถอยเชิงเส้นตรง (linear regression) ของความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ คือ ผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์ กับตัวแปรตาม คือ ผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอ้างอิงหรือวิธีมอจอนเนียร์ และต้องการพยากรณ์หรือประมาณค่าผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจอนเนียร์ โดยอาศัยผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์

### 1.2.1 การเก็บข้อมูล

1.2.1.1 ดำเนินการเก็บข้อมูลที่ได้จากการทดลองที่ 1.1 ซึ่งเป็นข้อมูลผลการวิเคราะห์ไขมันนมในช่วงที่ 2 ภายหลังจากปรับมาตรฐานเครื่องอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตรา กับวิธีมอจอนเนียร์ จำนวน 18 ตัวอย่าง

### 1.2.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตรา มีลค์อะนาไลเซอร์ ทั้ง 2 โมเดลกับวิธีมอจอนเนียร์ แล้วหาสมการถดถอยเชิงเส้นตรง โดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficients,  $r$ ) และสัมประสิทธิ์การกำหนดของสมการถดถอย ( $R^2$ ) (Cody and Smith, 1997)

การทดลองที่ 1.3 ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการใช้งานต่อความผันแปรในการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์

เนื่องจากข้อมูลที่แนะนำการปรับมาตรฐานของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ยังไม่มีความแน่นอน ผู้ประกอบการแนะนำว่าต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่องมือทุก ๆ 1 เดือน เป็นอย่างน้อย การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อยืนยันความเหมาะสมของระยะเวลาในการปรับมาตรฐานเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โดยศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการใช้งานต่อความผันแปรในการวิเคราะห์ไขมันนมและจำนวนการวิเคราะห์ตัวอย่างนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์เทียบกับวิธีมอจนเนียร์

### 1.3.1 การวางแผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลอง 2 x 4 Factorial Experiments in Randomized Complete Block Design เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย โดยมีแบบหุนการวิเคราะห์ ดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + \alpha\beta_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

เมื่อ

$$Y_{ijk} = \text{ค่าสังเกตจากทริทเมนต์ ที่ } jk, \text{ ซ้ำที่ } i \text{ เมื่อ } i = 1, \dots, 18$$

$$\mu = \text{ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง}$$

$$\rho_i = \text{อิทธิพลของบล็อกร คือ ตัวอย่างนม ที่ระดับ } i \text{ เมื่อ } i = 1, \dots, 18$$

$$\alpha_j = \text{อิทธิพลของค่าความแตกต่างระหว่างวิธี (D1, D2)}$$

$$\beta_k = \text{อิทธิพลของระยะเวลา}$$

$$\alpha\beta_{jk} = \text{อิทธิพลร่วมของค่าความแตกต่างระหว่างวิธี กับระยะเวลา}$$

$$\varepsilon_{ijk} = \text{Random error และ } \varepsilon_{ijk} \sim \text{NID}(0, \infty)$$

### 1.3.2 การเก็บข้อมูล

1.3.2.1 การเก็บข้อมูลที่ได้จากการทดลองที่ 1.1 ซึ่งเป็นข้อมูลผลการวิเคราะห์ไขมันนม ภายหลังจากปรับมาตรฐานเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตราโซนิกเทียบกับวิธีมอจนเนียร์ จำนวน 18 ตัวอย่าง โดยแบ่งจำนวนตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ไขมันนมออกเป็น ครั้งละ 3, 5, 5 และ 5 ตัวอย่าง วิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้ง 2 โมเดล และวิธีมอจนเนียร์ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 0 (ทันทีภายหลังจากปรับมาตรฐาน), 30, 60 และ 90 วัน

1.3.2.2 การเก็บบันทึกข้อมูลตามความเป็นจริงของจำนวนตัวอย่างและจำนวนการวิเคราะห์ไขมันนมภายในห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพนม ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม เริ่มตั้งแต่ระยะเวลา 0 วันและสิ้นสุดเมื่อระยะเวลาผ่านไป 90 วัน

### 1.3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

1.3.3.1 ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างหรือ the mean difference between chemical and instrumental results, (MD) ของเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่างนมดิบระหว่างวิธีมอจนเนียร์เปรียบเทียบกับวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็มและโมเดลอัลตราโซนิก วิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลองแบบ 2x4 Factorial in Randomized Complete Block Design เพื่อหาความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทริทเมนต์จากค่าเฉลี่ย (Least squares means) โดยวิธีการ GLM (General Linear Model) เพื่อหาความแตกต่าง และอิทธิพลร่วม (interaction effects) ระหว่าง 2 ปัจจัย (Cody and Smith, 1997)

1.3.3.2 คำนวณหาค่าพารามิเตอร์ทางสถิติที่บ่งชี้ถึงความเที่ยงตรง ของการวิเคราะห์ไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบทั้งหมดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม ภายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้แก่ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดซ้ำ (repeatability standard deviation,  $S_r$ ) อัตราซ้ำ (repeatability value, r-value) และ ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (repeatability relative standard deviation,  $RSD_r$ )

**การทดลองที่ 2: ศึกษาอิทธิพลของปริมาณไขมันในนมดิบและขนาดอนุภาคไขมันนมต่อการวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์**

เนื่องจากวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ จัดเป็นวิธีการที่อาศัยคลื่นเสียงความถี่สูงและกลไกทางกายภาพของคลื่นเสียงซึ่งสามารถตรวจวัดอนุภาคของสารได้โดยตรงเช่น ไขมันนม และสามารถประเมินค่าของอนุภาคดังกล่าวเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคไขมันนมกับปริมาณไขมันนมที่วิเคราะห์ได้ และการสอบย៉าความน่าเชื่อถือในการนำไปใช้งานของเครื่องมือดังกล่าว

**2.1. การวางแผนการทดลอง**

ใช้แผนการทดลอง Randomized Complete Block Design, RCBD เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยโดยมีแบบหุนการวิเคราะห์ ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \rho_i + \tau_j + \epsilon_{ij}$$

เมื่อ

$$Y_{ij} = \text{ค่าสังเกตจากบล็อกที่ } i, \text{ ทริทเมนต์ } j$$

$$\mu = \text{ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง}$$

$$\rho_i = \text{อิทธิพลของบล็อก คือ ตัวอย่างนมในแต่ละครั้งที่สุ่มเก็บ}$$

$$\tau_j = \text{อิทธิพลของอนุภาคเม็ดไขมันนม ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนม และปริมาตรเม็ดไขมันนม}$$

$$\epsilon_{ij} = \text{Random error และ } \epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \infty)$$

## 2.2 การเก็บข้อมูล

2.2.1 เก็บตัวอย่างนมดิบจากช่องบรรจุนมบรรจบบรรทุก จากศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เพื่อวิเคราะห์ไขมันนมตามวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ และวิธีมอจอนเนียร์ หลังปรับมาตรฐานเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ (ข้อมูลผลการวิเคราะห์ไขมันนมส่วนนี้ นำมาจากการทดลองที่ 1.1)

2.2.2 ตัวอย่างนมดิบที่เหลือไว้และแบ่งมาจากการทดลองที่ 1.1 จำนวน 15 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 40 มิลลิลิตร เก็บ 15 ครั้ง ครั้งละ 1 ตัวอย่าง

2.2.3 ตัวอย่างนมดิบผสมให้เข้ากันดี จากนั้นผ่านขั้นตอนการเจือจางนม 1: 25 มิลลิลิตร โดยใช้ไปเปิดตัวอย่างนมดิบจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรนมด้วยน้ำกลั่น เขย่า volumetric flask เพื่อให้ผสมกันดี จากนั้นใส่ลงในหลอดทดลอง และเก็บที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อรอนำไปวิเคราะห์ขนาดอนุภาคไขมันนมด้วยกล้องจุลทรรศน์

2.2.4 ขั้นตอนการเตรียมแผ่นสไลด์น้ำมันตัวอย่าง

2.2.5 สไลด์ตัวอย่างนมที่เตรียมเสร็จเรียบร้อยแล้ว ตรวจสอบขนาดอนุภาคไขมันนมด้วยกล้องจุลทรรศน์ตามวิธีการดัดแปลงจาก Sahai and Jackson (1996); Sriroth *et al.* (1999)

## 2.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

2.3.1 วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Cody and Smith, 1997) เพื่อหาค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไขมันนม จากวิธีการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ทั้ง 2 โมเดลและวิธีมอจอนเนียร์

2.3.2 หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) ระหว่างขนาดอนุภาคไขมันนม ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนม ( $\mu\text{m}$ ) กับปริมาณไขมันนม (%) และปริมาตรเม็ดไขมันนม ( $\mu\text{m}^3$ ) กับปริมาณไขมันนม

**การทดลองที่ 3: ศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราโซนิกในการวิเคราะห์ไขมันนม ที่มีขนาดอนุภาคไขมันนมแตกต่างกันโดยผ่านระบบโฮโมจีไนเซชันด้วยความดันแบบ Single-stage และ Two-stage ที่ระดับความดันต่างกัน**

การวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ สามารถตรวจวัดอนุภาคของสารได้โดยตรง โดยเฉพาะไขมันนม และสามารถประเมินค่าของอนุภาคดังกล่าวเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ การทดลองที่ผ่านมาเป็นการวิเคราะห์ไขมันนมโดยใช้ตัวอย่างนมดิบปกติที่มีการกระจายตัวของอนุภาคเม็ดไขมันนมที่ไม่มีความสม่ำเสมอ สำหรับการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมที่มีผลกระทบท่อการอ่านค่าปริมาณไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ เมื่อเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมโดยผ่านการโฮโมจีไนส์เซชัน จนมีขนาดอนุภาคที่เล็กลงและมีความสม่ำเสมอ

### 3.1 การวางแผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลอง Split Plot Design ที่จัด main plot แบบ Randomized Complete Block Design, RCBD เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย โดยมีแบบหุนการวิเคราะห์ ดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \delta_{ij} + \beta_k + \alpha\beta_{jk} + \epsilon_{ijk}$$

เมื่อ

$$Y_{ijk} = \text{ค่าสังเกตจากบล็อกที่ } i, \text{ ทรีทเมนต์ } jk$$

$$\mu = \text{ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง}$$

$$\rho_i = \text{อิทธิพลของบล็อก คือ ตัวอย่างนมในแต่ละครั้งที่สุ่มเก็บ}$$

$$\alpha_j = \text{อิทธิพลของรูปแบบการโฮโมจีไนส์ คือ Single-stage และ Two-stage}$$

$$\beta_k = \text{อิทธิพลของระดับความดันรวม ได้แก่ } 0, 100, 150, 200, 250 \text{ และ } 300 \text{ bar}$$

$$\alpha\beta_{jk} = \text{อิทธิพลร่วมของรูปแบบ และระดับความดันของการโฮโมจีไนส์}$$

$$\delta_{ij} = \text{Main plot error}$$

$$\epsilon_{ijk} = \text{Sub-plot error}$$

### 3.2 การเก็บข้อมูล

3.2.1 เก็บตัวอย่างน้ำมันดิบจากถังรวมนม จากศูนย์ผลิตภัณฑ์นมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จำนวน 6 ครั้ง เก็บนมตัวอย่างนมครั้งละ 6 ลิตร ก่อนเก็บตัวอย่างต้องมีการผสมน้ำมันดิบให้เข้ากัน ด้วยเครื่องกวน (agitators) ของถังนม

3.2.2 ตัวอย่างน้ำมันดิบที่ได้ จำนวน 6 ลิตร นำมาทำให้ขนาดเม็ดไขมันนมเปลี่ยนแปลง โดยผ่านเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ใช้รูปแบบ Single-stage และ Two-stage โดยใช้ตัวอย่างนม stage ละ 3 ลิตร และแบ่งตัวอย่างนมที่ระดับความดันต่างกัน โดยแต่ละความดันรวมใช้ตัวอย่างนม 500 มิลลิลิตร ดังนี้

3.2.2.1 Single-stage ใช้ความดันรวม 100, 150, 200, 250 และ 300 bar

3.2.2.2 Two-stage ใช้ความดันระดับความดันรวมเท่ากับแบบ Single-stage โดยใช้ความดันขั้นที่ 1 (first-stage) เท่ากับ 60, 110, 160, 210 และ 260 bar ต่อความดันขั้นที่ 2 (second-stage) เท่ากับ 40 bar คือ 60/40, 110/40, 160/40, 210/40, และ 260/40 bar

3.2.3 กลุ่มควบคุมที่ระดับความดัน 0 (นมปกติที่ไม่ผ่านความดัน นำไปวิเคราะห์ไขมันทันทีด้วยวิธีอัลตราโซนิก) วิเคราะห์ 2 ชั่วโมง และตรวจสอบขนาดเม็ดไขมันด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.2.4 บันทึกค่าของเปอร์เซ็นต์ไขมันและองค์ประกอบอื่น เช่น เปอร์เซ็นต์เนื้อมันรวม มันเนย เปอร์เซ็นต์โปรตีน และค่าความหนาแน่นของนมที่วิเคราะห์ได้จากวิธีอัลตราโซนิก มิลค์ อะนาไลเซอร์ จากตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ทั้งแบบ Single-stage และ Two-stage ที่ความดันต่างกัน

3.2.5 บันทึกขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมโดยวิเคราะห์เส้นผ่านศูนย์กลางที่วัดได้จากกล้องจุลทรรศน์ที่มีโปรแกรม image analysis ของตัวอย่างนมที่ผ่านโฮโมจีไนส์ทั้งแบบ Single-stage และTwo-stage ที่ความดันต่างกัน

### 3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

3.3.1 วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Cody and Smith, 1997) เพื่อหาค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไขมันนม จากวิธีการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ ของตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ทั้งสองแบบที่ระดับความดันต่างกัน รวมทั้งค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมที่วัดได้จากกล้องจุลทรรศน์

3.3.2 หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) ระหว่างขนาดอนุภาคไขมันนม ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนม ( $\mu\text{m}$ ) กับปริมาณไขมันนม (%) และปริมาณไขมันนมกับองค์ประกอบน้ำนมที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ของตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ทั้งสองแบบที่ระดับความดันต่างกัน

#### การทดลองที่ 4: อิทธิพลของอุณหภูมิชนิดต่อความผันแปรเปอร์เซ็นต์ไขมันนมและความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์ไขมันนม ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์

ในการปฏิบัติงานวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ จำเป็นต้องใช้ตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิเหมาะสมต่อการทำงานของเครื่องดังกล่าว อุณหภูมิของตัวอย่าง ตามคำแนะนำของ Eon Trading (2001) และ Weber Scientific (2003) ควรอยู่ระหว่าง 15 – 30 องศาเซลเซียส หากมีไขมันนมลอยเป็นแผ่นฟิล์มอยู่บนน้ำนม ต้องทำการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 – 45 องศาเซลเซียสก่อนโดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แล้วคนนมให้น้ำนมและไขมันนมละลายเข้ากันดี ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิเย็นลงที่ประมาณ 29 – 30 องศาเซลเซียส จึงค่อยนำมาวิเคราะห์ อย่างไรก็ตามขณะปฏิบัติงานในห้องตรวจสอบคุณภาพนมกรณีที่มีตัวอย่างนมดิบจำนวนมาก และกรณีเมื่อใช้นมดิบปกติที่เก็บจากช่องบรรจุนมบรรจุนม หรือถักรวมนมเพื่อนำมาวิเคราะห์ไขมันนมก่อนตัดสินใจยอมรับนมดิบมีอุณหภูมิต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียส เพื่อความสะดวกของผู้ปฏิบัติงานตรวจสอบคุณภาพของนมได้รวดเร็วขึ้น โดยไม่จำเป็นต้องอุ่นนมหรือรอให้อุณหภูมิของตัวอย่างนมอุ่นขึ้น ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาถึงอุณหภูมิของตัวอย่างนมดิบที่เหมาะสมเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีการดังกล่าว โดยไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์เปลี่ยนแปลง และหาความเที่ยงตรงของเครื่องมือดังกล่าวเมื่อวิเคราะห์ด้วยตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิต่างกัน

##### 4.1 การวางแผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลอง Randomized Complete Block Design, RCBD เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยโดยมีแบบหุนการวิเคราะห์ ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \rho_i + \tau_j + \epsilon_{ij}$$

เมื่อ

$$Y_{ij} = \text{ค่าสังเกตจากบล็อกที่ } i, \text{ ทริทเมนต์ } j$$

$$\mu = \text{ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง}$$

$$\rho_i = \text{อิทธิพลของบล็อก คือ ตัวอย่างนมในแต่ละครั้งที่สุ่มเก็บ}$$

$$\tau_j = \text{อิทธิพลของอุณหภูมิจากตัวอย่างนมดิบก่อนวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตรา}$$

$$\epsilon_{ij} = \text{Random error และ } \epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \infty)$$

## 4.2 การเก็บข้อมูล

4.2.1 เก็บตัวอย่างนมดิบจากช่องบรรจุนมบรรจบบรรทุก จากศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จำนวน 32 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2,000 มิลลิลิตร เก็บ 32 ครั้ง ครั้งละ 1 ตัวอย่าง

4.2.2 ตัวอย่างนมดิบแต่ละครั้งผสมให้เข้ากันดีแล้ว แบ่งใส่ขวดเก็บตัวอย่างจำนวน 6 ขวด ขวดละเท่า ๆ กัน ประมาณ 300 มิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

4.2.3 แบ่งตัวอย่างนมดิบทั้ง 6 ขวด เป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1	นมดิบที่มีอุณหภูมิ	5 องศาเซลเซียส
กลุ่มที่ 2	นมดิบที่มีอุณหภูมิ	10 องศาเซลเซียส
กลุ่มที่ 3	นมดิบที่มีอุณหภูมิ	15 องศาเซลเซียส
กลุ่มที่ 4	นมดิบที่มีอุณหภูมิ	20 องศาเซลเซียส
กลุ่มที่ 5	นมดิบที่มีอุณหภูมิ	25 องศาเซลเซียส
กลุ่มที่ 6	นมดิบที่มีอุณหภูมิ	30 องศาเซลเซียส

สำหรับกลุ่มที่ 1 ตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ไม่จำเป็นต้องอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ แต่ตัวอย่างนมดิบกลุ่มที่ 2 – 6 ต้องอุ่นตัวอย่างนมดิบโดยใช้แท่งแก้วคนให้นมเข้ากันก่อนเทใส่บีกเกอร์ จากนั้นอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์วัด เพื่อให้มีอุณหภูมิของตัวอย่างนมดิบเป็น 10, 15, 20, 25, และ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ก่อนทำการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธี อัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม และ โมเดลอัลตราต่อไป

4.2.4 วิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดล เอ็ม และ โมเดลอัลตราทันทีภายหลังจากอุ่น จากตัวอย่างนมดิบกลุ่มเดียวกัน จำนวน 2 ซ้ำ จนครบทั้ง 6 กลุ่ม

4.2.5 ใช้เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิของนมดิบทันที และบันทึกปริมาตรของนมที่วิเคราะห์เมื่อผ่านเข้าไปในเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล

### 4.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

4.3.1 วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Cody and Smith, 1997) เพื่อหาค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไขมันนม จากวิธีการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิต่างกัน โดยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ ทั้ง โมเดลเอ็ม และ โมเดลอัลตรา

4.3.2 คำนวณหาค่าพารามิเตอร์ทางสถิติที่บ่งชี้ถึงความเที่ยงตรง ของการวิเคราะห์ไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิต่างกัน ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม และ โมเดลอัลตราภายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้แก่ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดซ้ำ (repeatability standard deviation, S<sub>r</sub>) อัตราซ้ำ (repeatability value, r-value) และ ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (repeatability relative standard deviation, RSD<sub>r</sub>)

### สถานที่ทำการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่างนม การวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค มัลติอะนาไลเซอร์ และการไฮโมจีในสั่นในตัวอย่างนมทั้งหมด ดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพ ฝ่ายควบคุมคุณภาพและพัฒนาผลิตภัณฑ์ ศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

2. การวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจองเนียร์ ณ ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

3. การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคเม็ดไขมันด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตรวจวัด ณ หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลังและแป้ง สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร บางเขน กรุงเทพมหานคร

### ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองเริ่มตั้งแต่วันที่เดือนพฤศจิกายน 2547 ถึง พฤศจิกายน 2548 รวมระยะเวลาการทดลองทั้งหมด 12 เดือน

## ผลและวิจารณ์การทดลอง

### การทดลองที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ก่อนและหลังปรับมาตรฐานเปรียบเทียบกับวิธีมอจอนเนียร์

การศึกษาคความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ไขมันนม ด้วยเครื่องวิเคราะห์ห้องค์ประกอบน้ำมันระบบอัลตราโซนิก โดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่เรียกว่า อัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ หรือ Ekomilk จำนวน 2 รุ่น ได้แก่ โมเดลเอ็ม (UMA-M) และโมเดลอัลตรา (UMA-U) ทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ไขมันนมก่อนและหลังปรับมาตรฐานเครื่องมือ ตลอดจนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราซ้ำ ( $S_r$ ), อัตราซ้ำ (r-value) และ ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร ( $RSD_r$ ) ซึ่งใช้เป็นค่าพารามิเตอร์ทางสถิติวัดความเที่ยงตรงของเครื่องมือทั้งสองโมเดลดังกล่าวกับวิธีมอจอนเนียร์ซึ่งเป็นวิธีทางเคมีที่ใช้อ้างอิง จากการทดลองปรากฏผลดังต่อไปนี้

#### ก่อนปรับค่ามาตรฐาน

ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม และโมเดลอัลตรา ที่ได้รับการปรับมาตรฐานเครื่องโดยผู้ผลิต ณ ประเทศบัลกาเรีย พบค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ไขมันนม เท่ากับ 3.949 และ 3.942 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงกว่า ( $P < 0.05$ ) วิธีมอจอนเนียร์ ที่มีค่าเท่ากับ 3.720 เปอร์เซ็นต์ (ช่วงไขมันสำหรับตัวอย่างนมที่ทำกรวิเคราะห์อยู่ระหว่าง 3.09 – 4.39 เปอร์เซ็นต์) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเครื่องมือทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไขมัน, ค่า repeatability standard deviation ( $S_r$ ), repeatability value (r-value) and repeatability relative standard deviation ( $RSD_r$ ) ของไขมันในตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มัลติอะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตรา ก่อนและหลังปรับมาตรฐาน (calibration) ของเปอร์เซ็นต์ไขมัน และวิธีมอจอนเนียร์

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์ไขมันนม		
	UMA-M	UMA-U	มอจอนเนียร์
ก่อนปรับมาตรฐาน			
จำนวนตัวอย่าง	9	9	9
ไขมันนม (%) <sup>1</sup>	3.949 ± 0.109 <sup>n</sup>	3.942 ± 0.107 <sup>n</sup>	3.720 ± 0.106 <sup>n</sup>
$S_r$ (%) <sup>1</sup>	0.013 ± 0.004	0.012 ± 0.003	0.013 ± 0.002
r-value (%) <sup>1</sup>	0.035 ± 0.012	0.033 ± 0.008	0.035 ± 0.005
$RSD_r$ (%) <sup>1</sup>	0.315 ± 0.095	0.301 ± 0.073	0.341 ± 0.050
หลังปรับมาตรฐาน			
จำนวนตัวอย่าง	18	18	18
ไขมันนม (%) <sup>1</sup>	3.669 ± 0.117 <sup>n</sup>	3.663 ± 0.118 <sup>n</sup>	3.811 ± 0.116 <sup>n</sup>
$S_r$ (%) <sup>1</sup>	0.007 ± 0.002	0.010 ± 0.002	0.010 ± 0.002
r-value (%) <sup>1</sup>	0.020 ± 0.006	0.028 ± 0.005	0.028 ± 0.004
$RSD_r$ (%) <sup>1</sup>	0.260 ± 0.108	0.310 ± 0.073	0.267 ± 0.040

#### หมายเหตุ

<sup>1</sup>mean ± SE

<sup>n</sup> อักษรต่างกันภายในแวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกัน ( $P < 0.05$ )

เมื่อพิจารณาค่าพารามิเตอร์ทางสถิติที่ใช้วัดความเที่ยงตรงของผลการวิเคราะห์ไขมัน พบว่าค่า  $S_p$ , r-value และ  $RSD_r$  ของเครื่องมือทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 5) ซึ่งมีค่า ค่าเท่ากับ 0.013, 0.035 และ 0.315 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม สำหรับเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา มีค่าเท่ากับ 0.012, 0.033 และ 0.301 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนวิธีมอจอนเนียร์ พบว่าค่าพารามิเตอร์ของความเที่ยงตรงทั้งสามไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) เมื่อเทียบกับเครื่องมือทั้งสอง โดยมีค่า  $S_p$ , r-value และ  $RSD_r$  เท่ากับ 0.013, 0.035 และ 0.341 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันระหว่างการวิเคราะห์จำนวน 2 ซ้ำ (repeatability) พบว่า สำหรับเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม และ โมเดลอัลตรา มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.018 และ 0.017 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0 – 0.060 เปอร์เซ็นต์ และ 0 – 0.040 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนวิธีมอจอนเนียร์มีความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันระหว่างการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ เฉลี่ยเท่ากับ 0.018 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.029 เปอร์เซ็นต์ และค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.009 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ยอมรับได้ของวิธีมอจอนเนียร์พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดโดย AOAC คือที่ระดับไขมันนม 3.6 เปอร์เซ็นต์ ควรมีค่า  $S_p$ , r-value และ  $RSD_r$  เท่ากับ 0.015, 0.044 และ 0.396 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันระหว่างการวิเคราะห์ซ้ำต้องมีค่าไม่เกิน 0.030 เปอร์เซ็นต์ (Bradley, Jr, 2000)

สำหรับค่าเฉลี่ยความแตกต่าง (mean difference between chemical and instrumental results, MD) ซึ่งเป็นค่าทางสถิติสามารถใช้เป็นพารามิเตอร์วัดความแม่นยำจากเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอยางนมดิบที่วิเคราะห์ระหว่างเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม และ โมเดลอัลตรา กับวิธีมอจอนเนียร์ได้ จากการทดลองนี้พบว่ามีค่าเฉลี่ยความแตกต่างเท่ากับ -0.232 และ -0.225 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (วิธีมอจอนเนียร์มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไขมันน้อยกว่าวิธีอัลตราโซนิก) ปรากฏว่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่างหรือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแม่นยำ (standard deviation of the difference between chemical and instrumental results, SDD) มีค่าเท่ากับ 0.027 และ 0.020 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่างนี้พบว่ามี ความสอดคล้องกับรายงานของ AOAC (2000) ที่ระบุว่าเครื่องมืออัตโนมัติประเภทวิธี มิดอินฟราเรดสเปคโตรโฟโตเมทรี ต้องมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่างระหว่างวิธี อัลตราโซนิกกับวิธีทางเคมีที่ใช้อ้างอิงไม่เกิน 0.060 เปอร์เซ็นต์ (Bradley, Jr, 2000) เนื่องจากยังไม่มี รายงานของ AOAC ที่กำหนดเป็นเกณฑ์มาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ด้วยคลื่นเสียงอัลตราโซนิก

หากใช้ค่าดังกล่าวเป็นฐานเปรียบเทียบอาจทำให้ยอมรับส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่างจากการทดลองครั้งนี้ได้ อย่างไรก็ตามจากการทดลองในครั้งนี้ใช้เครื่องมือประเภทคลื่นเสียงอัลตราโซนิก ซึ่งมีรายงานของ Eon Trading (2001) ว่าการยอมรับได้ของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์ อะนาไลเซอร์ ในการวิเคราะห์ไขมันนมต้องมีค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่างวิธีดังกล่าวกับวิธีอ้างอิงเท่ากับ  $\pm 0.1$  เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องปรับค่ามาตรฐานไขมันนมของเครื่องมือดังกล่าวเสียก่อน เพราะค่าเฉลี่ยความแตกต่างไม่ได้อยู่ในช่วงที่กำหนดไว้ ต้องปรับมาตรฐานด้วยการชดเชยค่าเฉลี่ยความแตกต่างของไขมันนมประมาณ  $-0.230$  เปอร์เซ็นต์ ให้กับเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์ อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดลตามวิธีการที่แนะนำไว้

### หลังปรับค่ามาตรฐาน

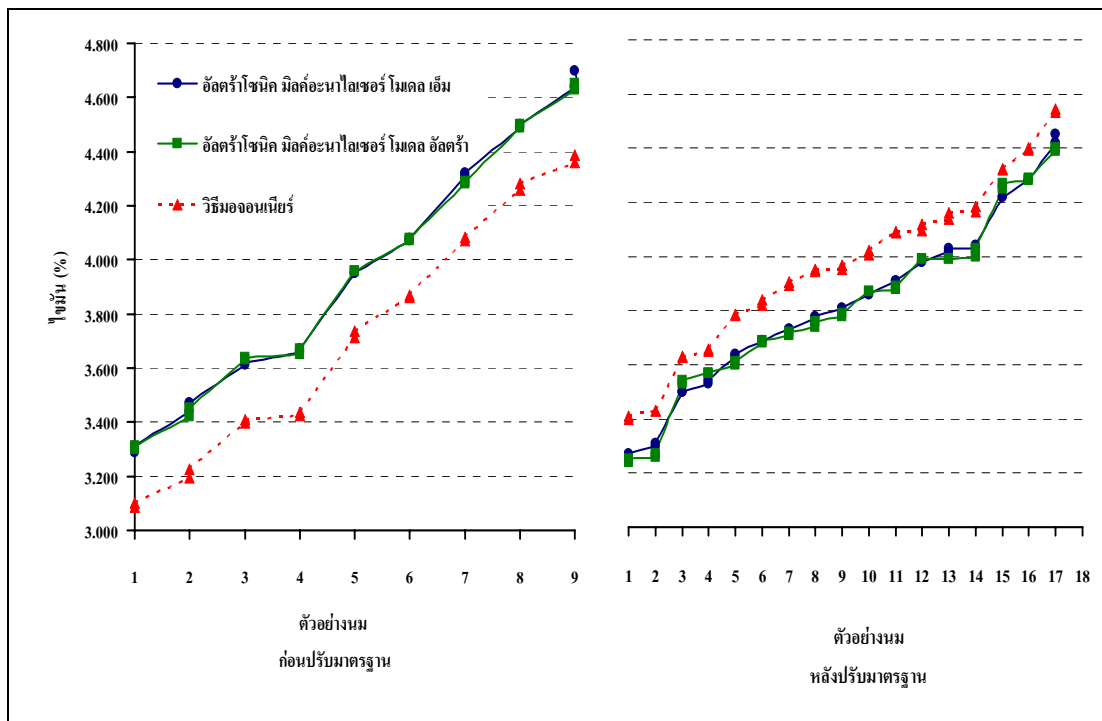
ภายหลังการปรับค่ามาตรฐานของไขมันนมให้แก่เครื่องระบบอัลตราโซนิก โดยใช้ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมระหว่างวิธีอัลตราโซนิกทั้งสองโมเดล กับวิธีมอจอนเนียร์ ซึ่งชดเชยค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $-0.230$  เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการวิเคราะห์ไขมันนม ผลปรากฏว่า วิธีมอจอนเนียร์ ยังคงให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไขมันนมสูงที่สุด ( $P < 0.05$ ) (ช่วงไขมันนมสำหรับตัวอย่างนมที่ทำการวิเคราะห์อยู่ระหว่าง  $1.25 - 4.54$  เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ วิธีอัลตราโซนิกมิลค์ อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็มและโมเดลอัลตรา (ตารางที่ 5) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $3.811, 3.669$  และ  $3.663$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันระหว่างการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน 2 ซ้ำ ด้วยวิธีมอจอนเนียร์ พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.014$  เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ระหว่าง  $0.001 - 0.028$  เปอร์เซ็นต์ ปรากฏว่ามีค่าต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนปรับค่ามาตรฐาน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่า ภายหลังการปรับมาตรฐานตัวอย่างนมดิบสำหรับทดสอบมีจำนวนรวมมากกว่าก่อนปรับมาตรฐานเครื่องมือ อย่างไรก็ตาม พบว่าค่าดังกล่าวสามารถยอมรับได้อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดโดย AOAC ซึ่งต้องมีค่าไม่เกิน  $0.030$  เปอร์เซ็นต์ (Bradley, Jr, 2000) เช่นเดียวกับวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกมิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม และโมเดลอัลตรา มีค่าอยู่ระหว่าง  $0 - 0.040$  เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.010$  และ  $0.014$  ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าก่อนปรับค่ามาตรฐานของเครื่องมือทั้งสองโมเดล อย่างไรก็ตามค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันระหว่างการวิเคราะห์ซ้ำด้วยเครื่องระบบอัลตราโซนิก มีรายงานสอดคล้องกับของ Weber Scientific (2003) ที่ระบุว่า เครื่องมืออัลตราโซนิกที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมัน ในส่วนของการวิเคราะห์ไขมันนม ต้องมีค่าความแตกต่างของ

เปอร์เซ็นต์ไขมันระหว่างการวิเคราะห์ซ้ำได้ไม่เกิน +0.040 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจากการทดลองครั้งนี้ ภายหลังการปรับมาตรฐานของเครื่องมือระบบอัลตราโซนิกทั้งสองโมเดล หากใช้ค่าดังกล่าวเป็น ฐานเปรียบเทียบ ปรากฏว่าสามารถอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ค่าพารามิเตอร์ความเที่ยงตรงของผลการวิเคราะห์ไขมัน พบว่า ค่า  $S_p$ , r-value และ  $RSD_r$  ของทั้งสามวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 5) เช่นเดียวกับก่อนปรับค่า มาตรฐาน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.007, 0.020 และ 0.260 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์ อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม สำหรับเครื่องอัลตราโซนิกมิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา มีค่าเท่ากับ 0.010, 0.028 และ 0.310 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนวิธีมอจนเนียร์ พบว่าค่าพารามิเตอร์ทั้งสาม ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับเครื่องมือทั้งสองเช่นเดียวกัน ซึ่งมีค่า  $S_p$ , r-value และ  $RSD_r$  เท่ากับ 0.013, 0.035 และ 0.341 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ยอมรับของวิธีมอจนเนียร์ อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดโดย AOAC (Bradley, Jr, 2000)

เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ไขมันนมก่อนปรับมาตรฐานของเครื่องมือ ผลจากการวิเคราะห์ ด้วยอัลตราโซนิกทั้งสองโมเดลมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าวิธีมอจนเนียร์ ( $P<0.05$ ) เท่ากับ 0.232 และ 0.225 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ภายหลังการปรับมาตรฐานของเครื่องมือโดยการชดเชยค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ไขมันนมดังกล่าว ยังคงปรากฏค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไขมันที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกมิลค์ อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตรา ต่ำกว่าวิธีมอจนเนียร์ ( $P<0.05$ ) เท่ากับ 0.142 และ 0.148 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (แสดงในภาพที่ 11) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่าสมการ (equation) ที่ควบคุมการประเมินผลภายในเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์เพื่อใช้คำนวณพารามิเตอร์ ต่าง ๆ หรืออาจเกิดจากโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ซึ่งเป็นตัวกำหนดความแม่นยำของเครื่องดังกล่าว มีความผิดพลาดในการอ่านผลการวิเคราะห์ไขมันนม จากคำแนะนำของผู้ผลิตรายงานความแม่นยำ ว่า ค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่างวิธีดังกล่าวกับวิธีอ้างอิงเท่ากับ  $\pm 0.1$  เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองนี้ พบว่ามีค่าเฉลี่ยดังกล่าวเกิน 0.1 เปอร์เซ็นต์ จึงมีความเป็นไปได้ที่ผู้ผลิตเครื่องมือทำการเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานหรือวิธีอ้างอิงอื่น ๆ จึงทำให้ค่าดังกล่าวมีความแตกต่างกับวิธีมอจนเนียร์ แม้ทำการปรับมาตรฐานเครื่องมือยังให้ผลของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่ต่างกัน



ภาพที่ 11 ความผันแปรของไขมันในตัวอย่างนมดิบที่มีเปอร์เซ็นต์ไขมันนมแตกต่างกัน เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล ก่อนและหลังปรับมาตรฐาน เทียบกับวิธีมอจองเนียร์

สำหรับค่าพารามิเตอร์ความเที่ยงตรงของเครื่องมือ พบว่าเมื่อพิจารณาก่อนปรับมาตรฐาน กับภายหลังปรับมาตรฐานของเครื่องมือ โดยใช้วิธีการจับคู่เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ  $S_r$ ,  $r$ -value และ  $RSD_r$  ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ระหว่างวิธีทั้งสาม แสดงว่าก่อนและหลังปรับมาตรฐานของเครื่องมือไม่มีผลกระทบต่อความเที่ยงตรงของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ทั้งสองโมเดล แต่อย่างไรก็ตามแนวโน้มภายหลังปรับมาตรฐาน มีความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ไขมันนมดีกว่าก่อนปรับมาตรฐาน โดยเฉพาะเครื่องอัลตราโซนิกมิลค์ อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม มีค่าความเที่ยงตรงดีขึ้น ภายหลังจากปรับมาตรฐาน สำหรับวิธีมอจนเนียร์ วิธีการนี้มีความผิดพลาดจากผู้วิเคราะห์มากกว่าการวิเคราะห์โดยเครื่องมืออัตโนมัติ ความผิดพลาดดังกล่าวและความเที่ยงตรงของวิธีการจึงขึ้นอยู่กับผู้ปฏิบัติงานหรือผู้วิเคราะห์ด้วย อย่างไรก็ตามการทดลองนี้มีความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ไขมันทั้งสามวิธีไม่พบความแตกต่างกัน โดยเฉพาะวิธีมอจนเนียร์ทั้งก่อนและหลังปรับมาตรฐานให้ค่าพารามิเตอร์ความเที่ยงตรงยอมรับได้อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดโดย AOAC (Bradley, Jr, 2000)

ถึงแม้ว่าขณะนี้ยังไม่มีรายงานการวิจัยถึงความเที่ยงตรงของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ในการวิเคราะห์ไขมันนม แต่มีการอ้างอิงถึงการใช้เครื่องมืออัตโนมัติในการวิเคราะห์ไขมันนม เช่น วิธีมิดอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตเมทรี (Mid-infrared spectroscopic method) โดยเครื่องมือที่เรียกว่า มิลโคสแกน ซึ่งเป็นวิธีการที่ AOAC ยอมรับ ค่าพารามิเตอร์ความเที่ยงตรงของเครื่องมิลโคสแกนยอมรับได้ มีค่า  $S_r$  และ  $RSD_r$  เท่ากับ  $\leq 0.02$  และ  $\leq 0.5$  เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนค่า  $r$ -value ที่ยอมรับได้ยังไม่มีการรายงานโดย AOAC (Bradley, Jr, *et al.*, 1992; Bradley, Jr, 2000) นอกจากนี้มีการศึกษาของฉิมูมา (2547) ที่ระบุถึงการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตเมทรี พบว่ามีค่า  $S_r$ ,  $r$ -value และ  $RSD_r$  เท่ากับ 0.016, 0.046 และ 0.396 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หากใช้ค่าดังกล่าวเป็นฐานเปรียบเทียบกับเครื่องมืออัตโนมัติประเภทมิดอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตเมทรี ที่มีชื่ออยู่ในขณะนี้และได้รับการยอมรับจาก AOAC อาจกล่าวได้ว่าการทดลองครั้งนี้ เครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดลมีความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์ไขมันนมที่ยอมรับได้

การทดลองที่ 1.2 ศึกษาสมการถดถอยและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของระดับไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิคกับวิธีมอจอนเนียร์

การวิเคราะห์สมการถดถอยเชิงเส้นตรง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ คือ ผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ กับตัวแปรตาม คือ ผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจอนเนียร์ เพื่อต้องการพยากรณ์หรือประมาณค่าผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจอนเนียร์ โดยอาศัยผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ จากการทดลองนี้ได้ประเมินความถูกต้องของการสอบเทียบเครื่องมือ โดยกำหนดไว้ว่าความสัมพันธ์ ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีอ้างอิงหรือวิธีมอจอนเนียร์ ( $Y_p$ , ตัวแปรตาม) และค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ ( $X_p$ , ตัวแปรอิสระ) ควรเป็นเส้นตรง และมี slope เข้าใกล้ 1 มากที่สุด (ไม่แตกต่างทางสถิติ) และจุดตัดบนแกน Y (intercept) ต้องเริ่มจาก 0 ปรากฏผลดังนี้

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficients,  $r$ ) ของผลการวิเคราะห์ไขมันนมระหว่างวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม กับวิธีมอจอนเนียร์ มีค่าเท่ากับ 0.9990 ( $P < 0.01$ ) ในภาพที่ 12 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของสองวิธีดังกล่าว มีค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดของสมการถดถอย ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.9987 ( $P < 0.01$ ) และมีสมการถดถอยเป็นดังนี้

$$Y = 0.9937X + 0.1646$$

X คือ ผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม

Y คือ ผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจอนเนียร์

ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของสมการถดถอย (standard error of regression) เท่ากับ 0.029 เปอร์เซ็นต์

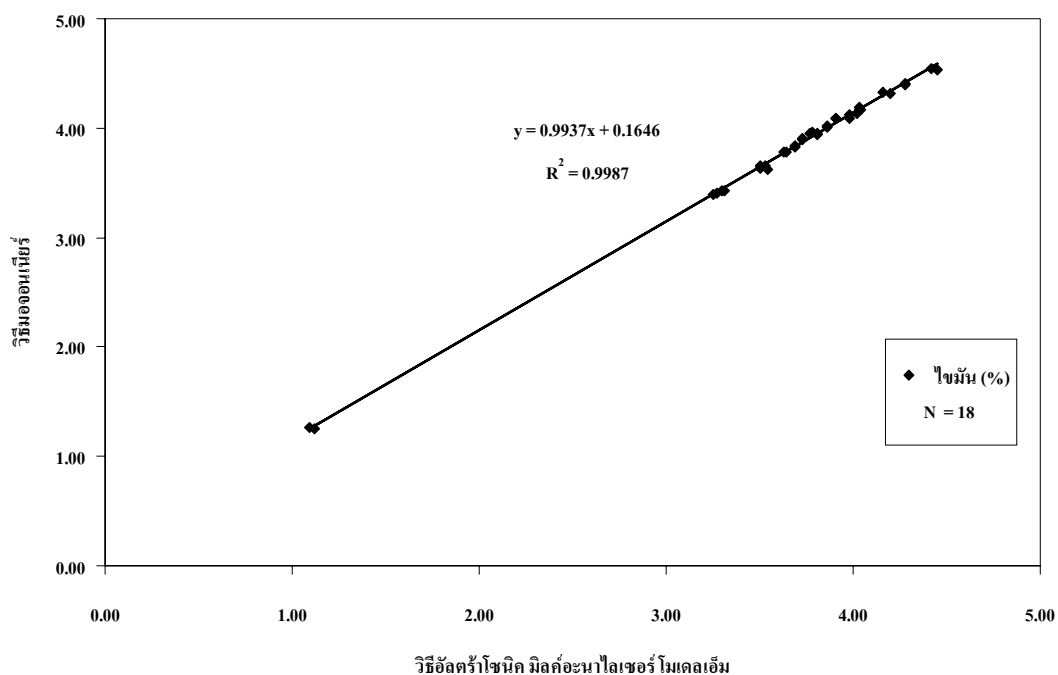
สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของผลการวิเคราะห์ไขมันนมระหว่างวิธีอัลตราโซนิก มิลค์ อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา กับวิธีมอออนเนียร์ มีค่าเท่ากับ 0.9980 ( $P < 0.01$ ) ความสัมพันธ์ของสองวิธีแสดงในภาพที่ 13 พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดของสมการถดถอยเท่ากับ 0.9960 ( $P < 0.01$ ) และมีสมการถดถอยเป็นดังนี้

$$Y = 0.9874X + 0.1939$$

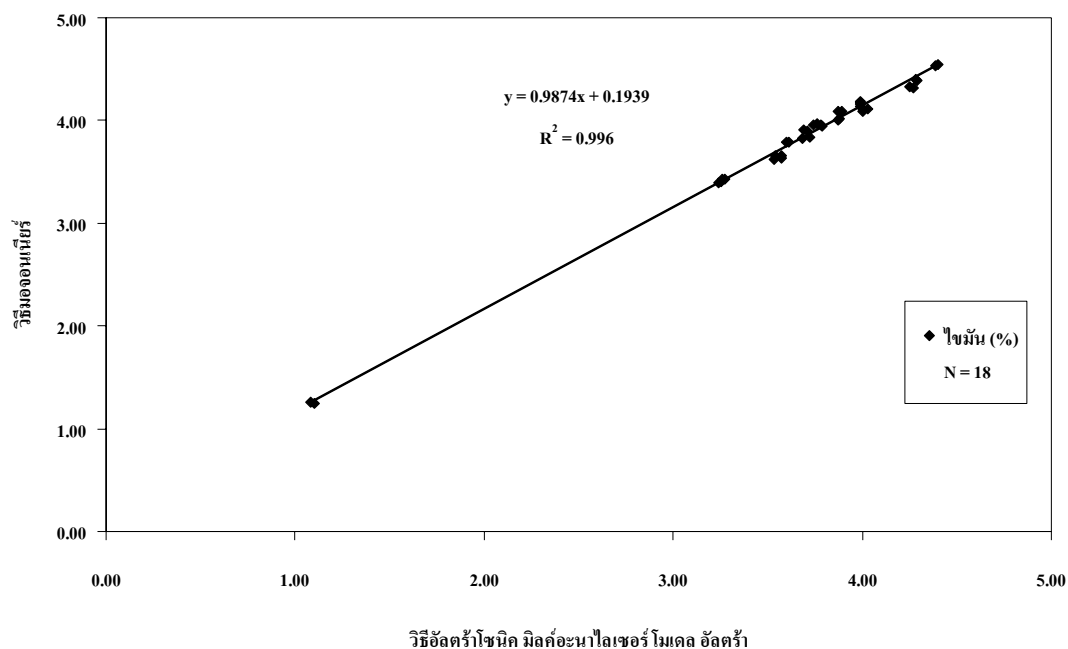
X คือ ผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา

Y คือ ผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอออนเนียร์

ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของสมการถดถอย เท่ากับ 0.051 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม กับวิธีมอออนเนียร์



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา กับวิธีมอจอนเนียร์

จากการทดลองปรากฏว่า ทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กันสูงโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9990 ( $P < 0.01$ ) และ 0.9980 ( $P < 0.01$ ) สำหรับเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็มและโมเดลอัลตรากับวิธีมอจอนเนียร์ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดของสมการถดถอย ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.9987 ( $P < 0.01$ ) และ 0.9960 ( $P < 0.01$ ) สำหรับโมเดลเอ็มและโมเดลอัลตราตามลำดับ ดังนั้นจึงสามารถนำผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ (X) มาทำนายผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจอนเนียร์ (Y) ได้จากสมการถดถอยสำหรับโมเดลเอ็ม  $Y = 0.9937X + 0.1646$  (ภาพที่ 12) และ  $Y = 0.9874X + 0.1939$  (ภาพที่ 13) สำหรับโมเดลอัลตรา โดยมีค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของสมการเท่ากับ 0.029 และ 0.051 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และสามารถทำนายผลของสมการดังกล่าวได้ประมาณ 99 เปอร์เซ็นต์ (ชิตชนก, 2541)

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของผลการวิเคราะห์ไขมันนมระหว่างวิธีอัลตราโซนิก มิลค์ อะนาไลเซอร์ กับวิธีมอจอนเนียร์ ยังไม่มีปรากฏในรายงาน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ศึกษาจากวิธีอัตโนมัติที่ใช้วิเคราะห์ไขมันนม โดยวิธีอินฟราเรดสเปกโทรโฟโตเมตรี กับวิธีมอจอนเนียร์ จากรายงานของฉัฐมา (2547) พบว่าวิธีอินฟราเรด สเปกโทรโฟโตเมตรี กับวิธีมอจอนเนียร์มีความสัมพันธ์กันสูงเช่นเดียวกัน โดยมีสมการถดถอยคือ  $Y = 0.9831X + 0.1127$  ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9965 ( $P < 0.01$ ) ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดของสมการถดถอย เท่ากับ 0.9931 ( $P < 0.01$ ) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของสมการถดถอย เท่ากับ 0.082 เปอร์เซ็นต์ ในทำนองเดียวกัน Weber Scientific (2003) ระบุว่า การวิเคราะห์ไขมันในนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก พบว่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมมีค่าใกล้เคียงกับวิธีอินฟราเรด สเปกโทรโฟโตเมตรี ด้วยเครื่องมือโคสแกน และรายงานว่าทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กันสูง

ถึงแม้ว่าการทดลองที่ 1.1 มีผลปรากฏว่าภายหลังการปรับมาตรฐานของเครื่องมือ ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตรา ต่ำกว่าวิธีมอจอนเนียร์เท่ากับ 0.142 และ 0.148 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อนำสมการถดถอยจากการทดลองนี้ไปใช้ ค่าเฉลี่ยของความแตกต่างที่เกิดขึ้นได้ปรับในตัวเองแล้ว ดังนั้น จึงสามารถใช้ในการตรวจสอบคุณภาพนมดิบในห้องปฏิบัติการด้านองค์ประกอบไขมันนม ของตัวอย่างนมดิบที่สุ่มเก็บจากช่องบรรจุนมบรรจหรือถึงรวมนม เพื่อคิดราคานม (composite payment milk samples) ในการคำนวณเทียบกลับกับวิธีอ้างอิงมอจอนเนียร์ได้

การทดลองที่ 1.3 ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการใช้งานต่อความผันแปรในการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์

การศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการใช้งาน และจำนวนการวิเคราะห์ตัวอย่างนมดิบต่อความผันแปรในการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โดยทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างหรือ MD ของเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่างนมดิบระหว่างวิธีมอจอนเนียร์เปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็มและโมเดลอัลตรา ค่าเฉลี่ยความแตกต่างดังกล่าวใช้เพื่อประเมินความแม่นยำ (Van de Voort, 1980; Grappin, 1987; ณีจิวมา, 2547) ของวิธีอ้างอิงกับเครื่องมืออัตโนมัติ โดยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดลที่ผ่านการปรับมาตรฐานแล้ว ภายในห้องปฏิบัติการตรวจสอบควบคุมคุณภาพนมตามปกติ ในช่วงเวลาทำการทดลองนี้ได้เก็บบันทึกข้อมูลของจำนวนตัวอย่างนมดิบปกติที่นำมาวิเคราะห์ตามความเป็นจริง ตลอดระยะเวลา 90 วัน ผลปรากฏว่า

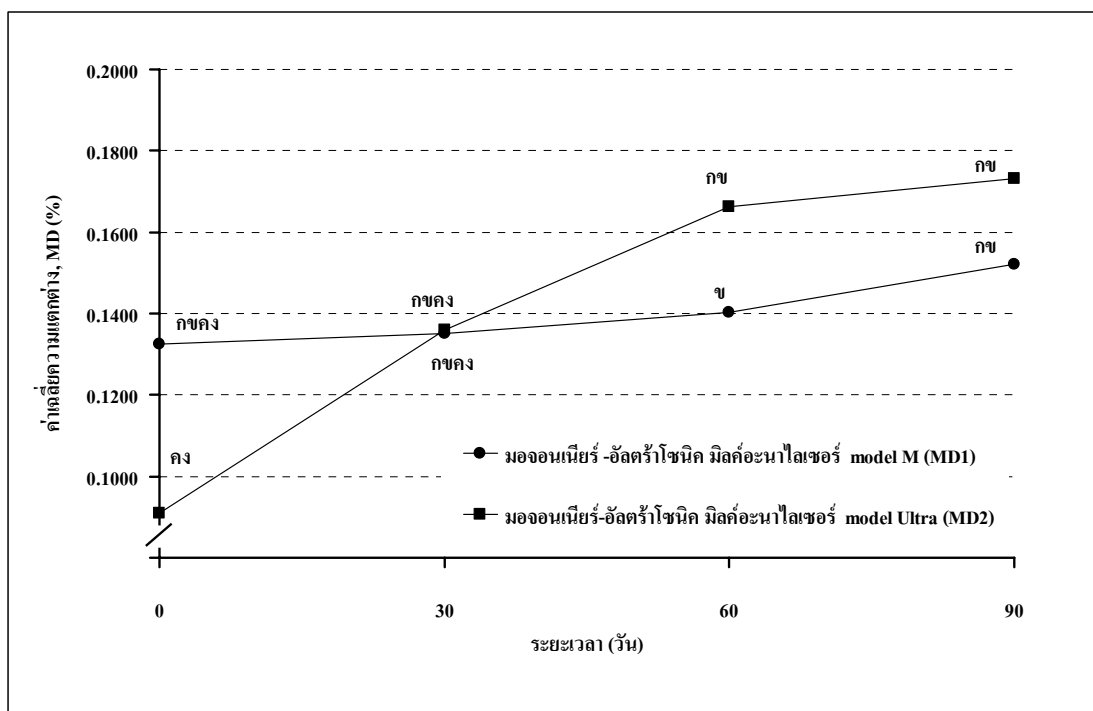
ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมระหว่างวิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธีมอจอนเนียร์เปรียบเทียบกับเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตรา ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของความแตกต่างระหว่างวิธีมอจอนเนียร์กับเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม ( $MD_1$ ) มีค่าเท่ากับ 0.140 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่างวิธีมอจอนเนียร์กับโมเดลอัลตรา ( $MD_2$ ) มีค่าเท่ากับ 0.142 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม พบว่าระยะเวลา 0 (คือเริ่มนับทันทีหลังปรับมาตรฐาน), 30, 60 และ 90 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ของค่าเฉลี่ยความแตกต่าง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.133, 0.135, 0.140 และ 0.152 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนโมเดลอัลตรา ผลปรากฏว่าที่ระยะเวลา 0 วัน ไม่มีความแตกต่าง ( $P > 0.05$ ) กับ ระยะเวลา 30 วัน แต่พบว่ามี ความแตกต่างทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับระยะเวลา 60 และ 90 วัน คือมีค่าเท่ากับ 0.091, 0.136, 0.166 และ 0.173 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างที่ระยะเวลาเดียวกันระหว่างเครื่องมือพบว่าทั้งสองโมเดล ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 Least squares means  $\pm$  SE ของค่าเฉลี่ยความแตกต่าง (MD) ของเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมอจนเนียร์เทียบกับเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม (MD<sub>1</sub>), โมเดลอัลตรา (MD<sub>2</sub>) เมื่อระยะเวลาต่างกัน ภายหลังจากปรับมาตรฐานแล้ว

ระยะเวลา		ความแตกต่างระหว่าง 2 วิธี	
(วัน)	N	MD <sub>1</sub>	MD <sub>2</sub>
0	3	0.133 $\pm$ 0.019 <sup>กขค</sup>	0.091 $\pm$ 0.019 <sup>กข</sup>
30	5	0.135 $\pm$ 0.014 <sup>กขค</sup>	0.136 $\pm$ 0.014 <sup>กขค</sup>
60	5	0.140 $\pm$ 0.014 <sup>ข</sup>	0.166 $\pm$ 0.014 <sup>กข</sup>
90	5	0.152 $\pm$ 0.014 <sup>กข</sup>	0.173 $\pm$ 0.014 <sup>กข</sup>
ค่าเฉลี่ย		0.140 $\pm$ 0.008	0.142 $\pm$ 0.008

<sup>กขค</sup> อักษรต่างกันภายในตารางเดียวกันแสดงความแตกต่างกัน (P<0.05)

เนื่องจากค่าเฉลี่ยความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมระหว่างการวิเคราะห์ด้วยวิธีมอจนเนียร์กับเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตรา ใช้เพื่อประเมินความแม่นยำของเครื่องมือดังกล่าว เมื่อระยะเวลาที่ใช้งานของเครื่องมือผ่านไปนานยิ่งขึ้น พบว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความแม่นยำของเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตร้าลดลงมากกว่าเมื่อเทียบกับโมเดลเอ็มที่ระยะเวลานานขึ้น ซึ่งสังเกตจากค่าเฉลี่ยความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันเพิ่มขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงของ Least squares means จากค่าเฉลี่ยความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่างนมดิบวิเคราะห์ด้วยวิธีมอจอนเนียร์เทียบกับเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตราที่ปรับมาตรฐานแล้ว เมื่อระยะเวลาต่างกัน

การศึกษาความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ กับวิธีมอจอนเนียร์ พบว่ายังไม่มีผลการรายงานค่าความแม่นยำในรูปของผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีดังกล่าว แต่มีผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่อง Mid-Infrared Spectroscopic และได้รับการยอมรับจาก AOAC (2000) รายงานความแม่นยำซึ่งวัดในรูปค่าเฉลี่ยของความแตกต่างของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องดังกล่าวกับวิธีมอจอนเนียร์ ต้องมีค่า MD ไม่เกิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ (Bradley, Jr, 2000) จากการทดลองนี้การปรับมาตรฐานของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ที่ระยะเวลา 0 วัน หรือทันทีที่ปรับค่ามาตรฐานของเครื่องด้วยค่าที่ถูกต้องจากวิธีมอจอนเนียร์ พบว่ายังให้ค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมไม่ตรงตามความเป็นจริง เมื่อพิจารณาค่า  $MD_1$  และ  $MD_2$  ที่ระยะเวลา 0 วันของตัวอย่างที่ 1 มีค่าเท่ากับ 0.124 และ 0.089 ตามลำดับ หากนำค่า MD เท่ากับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นค่าที่ได้รับการยอมรับของเครื่อง Mid-Infrared Spectroscopic แล้วจึงบวกกับค่า  $MD_1$  และ  $MD_2$  ตามลำดับ ค่าดังกล่าวที่ได้ใหม่นี้ใช้เป็นฐานในการเปรียบเทียบกับเครื่องมืออัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ เพื่อหาระยะเวลาที่ควรปรับมาตรฐานของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โดย มีค่า  $MD_1$  และ  $MD_2$  (ค่าฐานเปรียบเทียบ) เพิ่มขึ้นเป็น 0.174 และ 0.139 ตามลำดับ

จากตารางที่ 6 พบว่าแนวโน้มของระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 0 จนถึง 90 วัน กับค่าเฉลี่ยความแตกต่าง MD<sub>1</sub> และ MD<sub>2</sub> เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงศึกษาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการใช้งาน (วัน) กับค่าเฉลี่ยความแตกต่างของ MD<sub>1</sub> และ MD<sub>2</sub> ผลปรากฏว่า เครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลากับค่าเฉลี่ยความแตกต่าง (MD<sub>2</sub>) เท่ากับ 0.616 สูงกว่า (P<0.01) เครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลากับค่าเฉลี่ยความแตกต่าง (MD<sub>1</sub>) เท่ากับ 0.289 สำหรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง MD<sub>1</sub> และ MD<sub>2</sub> มีค่าเท่ากับ 0.574 (P<0.05) แสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างค่าเฉลี่ยความแตกต่าง (MD) ระหว่างเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม (MD<sub>1</sub>), โมเดลอัลตรา (MD<sub>2</sub>) ที่ปรับมาตรฐานแล้วกับระยะเวลาที่ใช้วิเคราะห์ไขมันนม

พารามิเตอร์	ระยะเวลา (วัน) <sup>1</sup>	MD <sub>1</sub>	MD <sub>2</sub>
ระยะเวลา (วัน)	...		
MD <sub>1</sub>	0.289	...	
MD <sub>2</sub>	0.616**	0.574*	...

N = 18

\*\*ค่าสหสัมพันธ์ มีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01), \*ค่าสหสัมพันธ์ มีนัยสำคัญ (P<0.05)

<sup>1</sup> ระยะเวลาที่เครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ผ่านใช้งาน คือ 0, 30, 60 และ 90 วัน

จากตารางที่ 7 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการใช้งานกับค่า  $MD_2$  มีความสัมพันธ์สอดคล้องกันมากกว่าเมื่อเทียบกับระยะเวลาการใช้งานกับค่า  $MD_1$  ดังนั้นสามารถนำความสัมพันธ์จากระยะเวลาการใช้งานกับค่า  $MD_2$  เพื่อประเมินความแม่นยำจากการวิเคราะห์ไขมันด้วยวิธีมอจนเนียร์กับเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลอัลตรา เมื่อระยะเวลาเปลี่ยนแปลง และนำมาพิจารณาเพื่อหาระยะเวลาสำหรับการปรับมาตรฐานของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ จากการทดลองนี้เมื่อระยะเวลาผ่านไป 30 วัน แต่ไม่เกิน 60 วัน พบว่าค่า  $MD_2$  (0.166) มากกว่าค่า 0.139 (ค่าฐานเปรียบเทียบ) ดังนั้นจึงควรปรับมาตรฐานของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลอัลตราอีกครั้งตามระยะเวลาดังกล่าว สำหรับสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง  $MD_1$  และ  $MD_2$  มีค่าค่อนข้างสูง ( $r = 0.574$ ) จึงใช้ความสัมพันธ์ดังกล่าวมากำหนดการปรับมาตรฐานของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม พบว่าเมื่อระยะเวลา 90 วัน ค่า  $MD_2$  มีค่าเท่ากับ 0.173 ใกล้เคียงค่า 0.174 (ค่าฐานเปรียบเทียบ) ดังนั้นจึงควรปรับมาตรฐานของเครื่องมือดังกล่าวภายหลังการใช้งานในระยะเวลา 90 วัน

การเก็บบันทึกข้อมูลจากการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม ภายหลังปรับมาตรฐานด้วยวิธีมอจนเนียร์ โดยใช้เครื่องมือดังกล่าววิเคราะห์ไขมันจากตัวอย่างนมดิบปกติ และกระทำภายในห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพนม เป็นงานประจำตลอดระยะเวลา 90 วัน รวมจำนวนตัวอย่างนมดิบปกติทั้งสิ้น 291 ตัวอย่าง และมีจำนวนวิเคราะห์ตัวอย่างนมเป็น 582 วิเคราะห์ (ช่วงไขมันสำหรับตัวอย่างนมดิบที่ทำกรวิเคราะห์อยู่ระหว่าง 3.25 – 4.69 เปอร์เซ็นต์) ความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมจากการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน 2 ซ้ำ (repeatability) มีค่าอยู่ระหว่าง 0 – 0.040 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.011 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการทดลองที่ 1.1 ภายหลังปรับค่ามาตรฐานของเครื่องมือ มีค่าดังกล่าวเฉลี่ยเท่ากับ 0.010 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันระหว่างการวิเคราะห์ซ้ำด้วยเครื่องระบบอัลตราโซนิก สอดคล้องกับรายงานของ Weber Scientific (2003) ที่ระบุว่า เครื่องมืออัลตราโซนิกที่ใช้วิเคราะห์ไขมันนม ต้องมีค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันระหว่างการวิเคราะห์ซ้ำได้ไม่เกิน +0.040 เปอร์เซ็นต์ เมื่อประเมินความเที่ยงตรงของเครื่องมือดังกล่าว โดยพิจารณาค่า  $S_p$ , r-value และ  $RSD_r$  มีค่าเท่ากับ 0.008, 0.023 และ 0.211 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้หากเปรียบเทียบกับค่าพารามิเตอร์ความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจนเนียร์ (ในการทดลองที่ 1.1) ดังแสดงในตารางที่ 8

**ตารางที่ 8** ค่า Repeatability standard deviation ( $S_r$ ), repeatability value (r-value) และ repeatability relative standard deviation ( $RSD_r$ ) ของไขมันในตัวอย่างนมดิบทั้งหมด วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม หลังปรับมาตรฐาน ในห้องปฏิบัติการ ตรวจสอบคุณภาพนม ตลอดระยะเวลา 90 วัน

จำนวนตัวอย่าง	พารามิเตอร์ความเที่ยงตรง		
	$S_r$ (%)	r-value (%)	$RSD_r$ (%)
18*	0.007*	0.020*	0.260*
291	0.008	0.023	0.211

\* การทดลองที่ 1.1 วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็มหลังปรับมาตรฐาน

จากตารางที่ 8 เมื่อพิจารณาโดยการจับคู่เปรียบเทียบพารามิเตอร์ของความเที่ยงตรงเดียวกันที่ปรากฏในการทดลองที่ 1.1 (ตารางที่ 5) ปรากฏว่าแนวโน้มของวิธีการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องมือนี้ยังคงมีความเที่ยงตรงอยู่สูง เพราะสังเกตจากค่าพารามิเตอร์ทั้ง 3 แต่ละคู่มีค่าใกล้เคียงกัน สำหรับค่า  $S_r$  และ r-value เพิ่มขึ้นเป็น 0.001 และ 0.003 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนค่า  $RSD_r$  มีค่าลดลงที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะใช้จำนวนตัวอย่างนมดิบมากกว่า อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้สามารถบ่งชี้ให้ทราบข้อมูลเพิ่มเติมว่า หากห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพนมวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ภายหลังการปรับมาตรฐานแล้ว ใช้จำนวนตัวอย่างนมดิบปกติอย่างน้อย 300 ตัวอย่าง หรือจำนวน 600 วิเคราะห์ และใช้เครื่องวิเคราะห์ภายในระยะเวลา 90 วัน หรืออาจวิเคราะห์ด้วยตัวอย่างนมดิบประมาณ 100 ตัวอย่างในระยะเวลา 30 วัน สามารถยึดระยะเวลาการปรับมาตรฐานของเครื่องมือในครั้งต่อไปได้ไม่ต่ำกว่า 90 วัน โดยที่ความเที่ยงตรงของเครื่องมือนี้ยังคงไม่เปลี่ยนแปลง สำหรับศูนย์รวบรวมนํ้านมดิบโดยปกติการตรวจสอบคุณภาพในแต่ละวันมีตัวอย่างนมดิบจำนวนมากที่ต้องทดสอบ หากวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ จึงมีข้อเสนอแนะว่าควรทำการปรับมาตรฐานของเครื่องมือดังกล่าวด้วยวิธีมาตรฐานที่หน่วยงานนั้นยอมรับทุก ๆ 30 วัน นอกจากนี้ อาจจำเป็นต้องพิจารณาค่าความแม่นยำหรือความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่ปรับค่ามาตรฐานกับวิธีอ้างอิงควบคู่ด้วย หากมีค่าดังกล่าวเกินกว่าการยอมรับได้ของหน่วยงานก็ควรทำการปรับมาตรฐานเครื่องมือชนิดนี้ทันที

## การทดลองที่ 2 ศึกษาอิทธิพลของปริมาณไขมันในนมดิบและขนาดอนุภาคไขมันนมต่อการวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไขมันนมกับขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม ที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองเมื่อใช้ตัวอย่างนมดิบปกติจำนวน 15 ตัวอย่าง โดยมีช่วงของไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอ้างอิงคือวิธีมอจนเนียร์ ผลปรากฏว่ามีค่าไขมันสำหรับตัวอย่างนมที่ทำการวิเคราะห์อยู่ระหว่าง 3.400 ถึง 4.540 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยไขมันนมเท่ากับ 3.986 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่า ( $P < 0.05$ ) วิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ซึ่งมีช่วงของไขมันนมวิเคราะห์อยู่ระหว่าง 3.260 ถึง 4.440 เปอร์เซ็นต์ สำหรับโมเดลเอ็ม และ 3.250 ถึง 4.400 เปอร์เซ็นต์ สำหรับโมเดลอัลตรา ทั้งนี้ทั้งสองโมเดลวิเคราะห์ไขมันนม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.851 และ 3.850 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากการสำรวจขนาดอนุภาคเม็ดไขมันด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีโปรแกรมวัดขนาดด้วยภาพ (image analysis) ปรากฏว่าเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.849 ไมครอน ดังแสดงในตารางที่ 9

จากการทดลองนี้ปรากฏว่าขนาดของอนุภาคเม็ดไขมันนมมีความสอดคล้องกับรายงานของ Walstra (1995) ระบุว่าในน้ำนมโคปกติอนุภาคเม็ดไขมันนมจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมเฉลี่ยเท่ากับ 2.5 – 5 ไมครอน เป็นไปในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Michalski *et al.* (2004) รายงานว่า การวัดการกระจายของอนุภาคไขมันในนมดิบปกติ ด้วยเครื่อง laser light scattering ซึ่งจัดว่าเป็นเครื่องมือที่มีความละเอียดสูงและคำนวณด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ พบว่ามีเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันนมเฉลี่ยเท่ากับ 4 ไมครอน

**ตารางที่ 9** ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมเทียบกับปริมาณไขมันนม (%) ของตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ไขมันด้วยวิธีมอจนเนียร์กับวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล

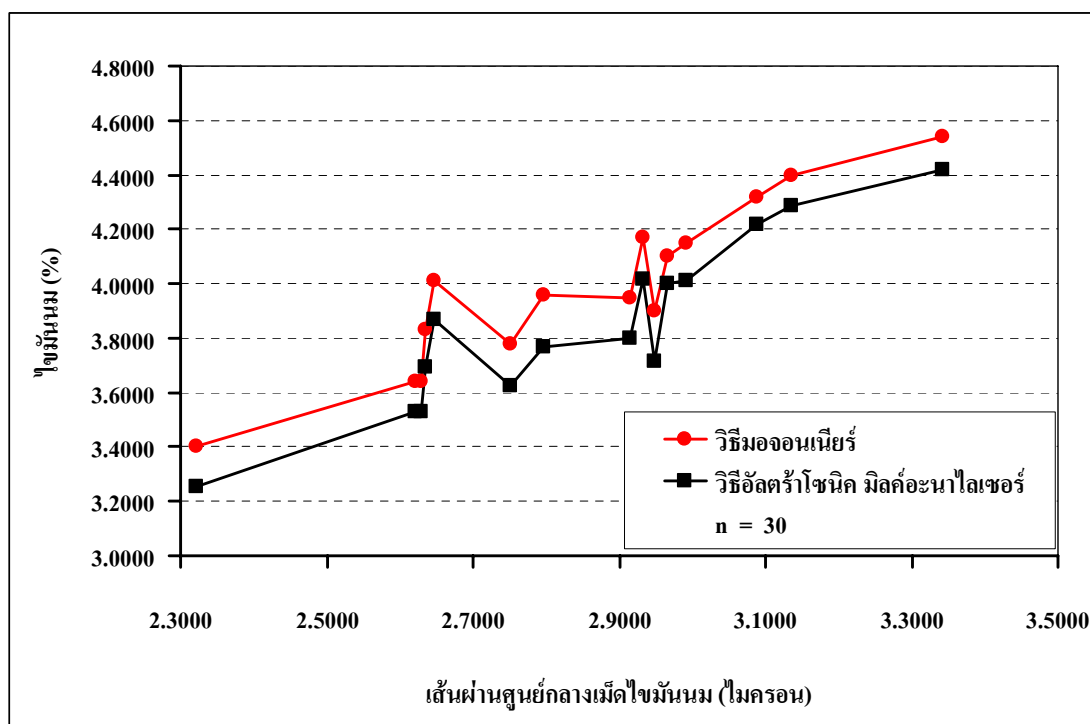
ตัวอย่างนมดิบ	เส้นผ่านศูนย์กลาง	วิธีวิเคราะห์ไขมัน		
	เม็ดไขมันนม (ไมครอน)	มอจนเนียร์(%)	UMA-M (%)	UMA-U (%)
1	2.322	3.400	3.260	3.250
2	2.621	3.640	3.500	3.560
3	2.630	3.640	3.540	3.520
4	2.635	3.830	3.690	3.700
5	2.647	4.010	3.860	3.880
6	2.752	3.780	3.640	3.610
7	2.797	3.960	3.780	3.750
8	2.914	3.950	3.810	3.790
9	2.933	4.170	4.040	3.990
10	2.949	3.900	3.730	3.700
11	2.966	4.100	3.980	4.020
12	2.991	4.150	4.030	3.990
13	3.088	4.320	4.180	4.260
14	3.136	4.400	4.280	4.290
15	3.343	4.540	4.440	4.400
ค่าเฉลี่ย*	2.849	3.986 ± 0.079 <sup>n</sup>	3.851 ± 0.081 <sup>u</sup>	3.850 ± 0.081 <sup>u</sup>

N = 15

\*mean ± SE

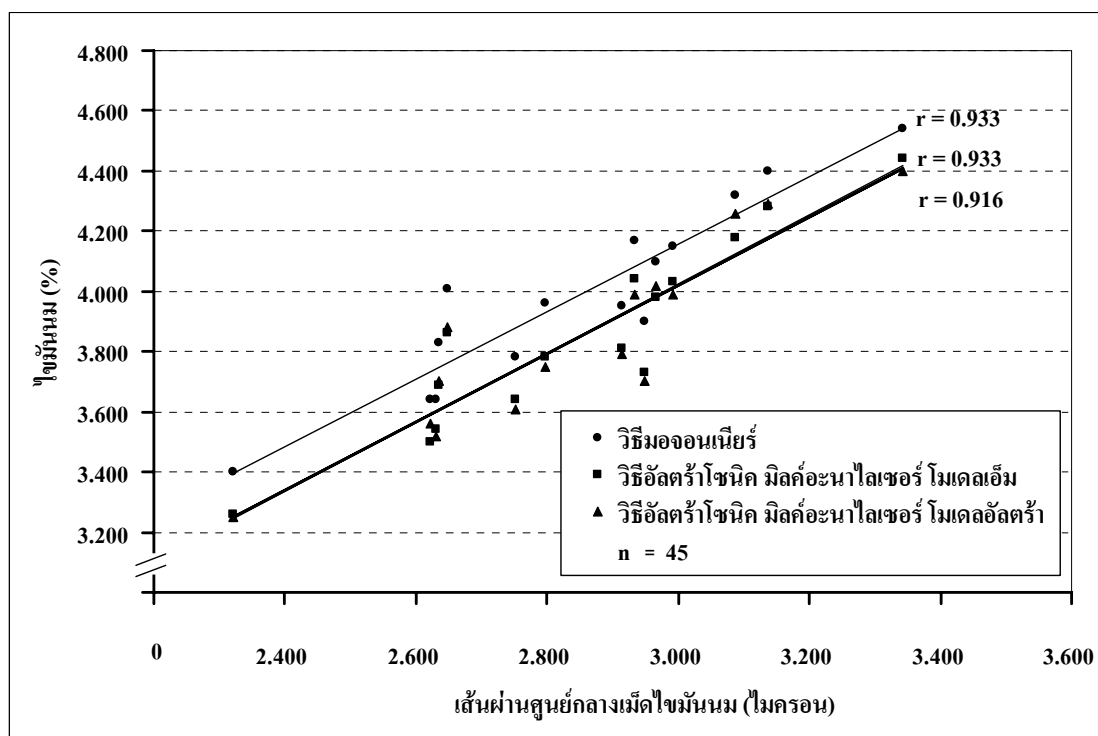
<sup>n</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบทั้งหมด จากการทดลองนี้ปรากฏว่า นมดิบที่มีปริมาณไขมันนมสูง มีแนวโน้มของเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมใหญ่ขึ้นเช่นเดียวกัน กรณีการวิเคราะห์ด้วยวิธีมอจอนเนียร์เปรียบเทียบกับวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ พบค่าความแตกต่างของเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนม สังกัดจากเส้นกราฟขนานกันและคงที่ซึ่งมีความใกล้เคียงกันตลอด (ช่วงของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันที่วิเคราะห์อยู่ระหว่าง 2.32 ถึง 3.34 ไมครอน) ดังแสดงในภาพที่ 15



ภาพที่ 15 เปรูเซ็นต์ไขมันนมและเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมในตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ไขมันด้วยวิธีมอจอนเนียร์และวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์

เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม ปรากฏว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมอจนเนียร์และวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ แนวโน้มของอนุภาคเม็ดไขมันนมมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วัดได้จากทั้งสองวิธีเพิ่มมากขึ้น สำหรับความสัมพันธ์ดังกล่าวสามารถแสดงได้จากสหสัมพันธ์ พบว่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนม ( $x$ ) กับปริมาณไขมันนม ( $y$ ) เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีมอจนเนียร์ หรือวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล เป็นแบบเชิงบวกซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.933, 0.933 และ 0.916 ( $P < 0.01$ ) ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 16



ภาพที่ 16 สหสัมพันธ์แบบเชิงบวกระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมกับเปอร์เซ็นต์ไขมันนม ในตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมอจนเนียร์และวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมมีอิทธิพลต่อผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันนม นั่นคือเมื่อขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมใหญ่ขึ้นย่อมมีโอกาสที่จะพบค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมสูงขึ้นด้วย ไม่ว่าจะใช้วิธีการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจองเนียร์หรือวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ จากรายงานของ Michalski *et al.* (2004) และ Wiking *et al.* (2004) ระบุถึงขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมที่มีส่วนตรงกลางของเม็ดไขมันนมซึ่งจัดเป็นสารประเภทไตรเอซิลกลีเซอรอลมีอยู่ประมาณ 97 – 98% ของไขมันทั้งหมด อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ไขมันด้วยวิธีมอจองเนียร์ ซึ่งอาศัยหลักการแยกไขมันนมออกจากองค์ประกอบอื่น ๆ ของน้ำนม จึงถือว่าเป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง เพราะมีขั้นตอนการสกัดไขมันนมด้วยอีเทอร์ 3 ครั้ง หลังระเหยอีเทอร์ออกจึงชั่งน้ำหนักที่แท้จริง (Bradley, Jr, *et al.*, 1992) ดังนั้นมีความเป็นไปได้ที่ไขมันในน้ำนมถูกแยกออกมาหมด ส่งผลให้การวิเคราะห์ด้วยวิธีการดังกล่าวนี้ ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ของไขมันนมที่มีอยู่จริง โดยเฉพาะไตรเอซิลกลีเซอรอลทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลักของอนุภาคเม็ดไขมันนมและมีอยู่เป็นจำนวนมาก จึงอาจส่งผลให้ค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมสูงกว่าการวิเคราะห์ด้วยวิธีการที่อาศัยหลักการของอัลตราโซนิก แสดงให้เห็นว่าการใช้คลื่นเสียงอัลตราโซนิกในการวิเคราะห์ไขมันนม มีประสิทธิภาพการประเมินผลดีน้อยกว่าวิธีการใช้สารเคมีโดยเฉพาะการสกัดด้วยอีเทอร์ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่าเครื่องมือที่นาระบบอัลตราโซนิกมาใช้ในการวิเคราะห์ไขมันนม เป็นเพียงการนำหลักการทางฟิสิกส์ของคลื่นเสียงความถี่สูงและมีความต่อเนื่องกันมาหาความสัมพันธ์ขององค์ประกอบในน้ำนม แล้วคำนวณจากสูตรเฉพาะทางคณิตศาสตร์ (Eon Trading, 2001; Weber Scientific, 2003)

อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการสอบย៉าคความน่าเชื่อถือของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ที่สามารถตรวจวัดอนุภาคของเม็ดไขมันนมได้โดยตรง และประมวลผลเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมได้ จึงพิจารณาความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบ กับขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนม และปริมาตรเม็ดไขมันนม ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้ง 15 ตัวอย่าง แล้วจัดเรียงตามปริมาณไขมันนมต่ำสุดไปสูงสุด และแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัวอย่างดังต่อไปนี้คือ กลุ่มที่มีไขมันนมต่ำอยู่ระหว่าง 3.250 ถึง 3.690 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่มีไขมันนมระหว่าง 3.730 ถึง 3.980 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่มีไขมันนมสูงอยู่ระหว่าง 4.000 ถึง 4.440 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแต่ละกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของไขมันนมแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เท่ากับ 3.530, 3.830 และ 4.190 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 10 เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม ปรากฏว่า เส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.594, 2.854 และ 3.098 ไมครอนตามลำดับ สำหรับค่าเฉลี่ย

ของปริมาตรเม็ดไขมันนมซึ่งคำนวณด้วยสูตรปริมาตรของทรงกลม ( $4/3\pi r^3$ ) พบว่าทั้ง 3 กลุ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P<0.05$ ) เช่นเดียวกันโดยมีค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มเป็น 9.226, 12.238 และ 15.674 ลูกบาศก์ไมครอนตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ช่วงของไขมันนมและค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไขมัน ( $\pm$ SE) ในตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ กับขนาดอนุภาคไขมันนม ( $\pm$ SE) ที่สำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

ช่วงของไขมันนม		ขนาดอนุภาคไขมัน		
		ไขมันนม เฉลี่ย (%)	เส้นผ่านศูนย์กลาง เฉลี่ย ( $\mu\text{m}$ )	ปริมาตร เฉลี่ย ( $\mu\text{m}^3$ ) <sup>1</sup>
3.250 – 3.690	5	$3.526 \pm 0.075^{\text{a}}$	$2.594 \pm 0.071^{\text{a}}$	$9.226 \pm 0.720^{\text{a}}$
3.730 – 3.980	5	$3.832 \pm 0.043^{\text{b}}$	$2.854 \pm 0.059^{\text{b}}$	$12.238 \pm 0.726^{\text{b}}$
4.000 – 4.440	5	$4.194 \pm 0.077^{\text{c}}$	$3.098 \pm 0.072^{\text{c}}$	$15.674 \pm 1.099^{\text{c}}$

<sup>1</sup> คำนวณปริมาตรเม็ดไขมัน ( $\mu\text{m}^3$ ) จากสูตร  $4/3 \pi r^3$

<sup>กขค</sup> อักษรต่างกันภายในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่าง ( $P<0.05$ )

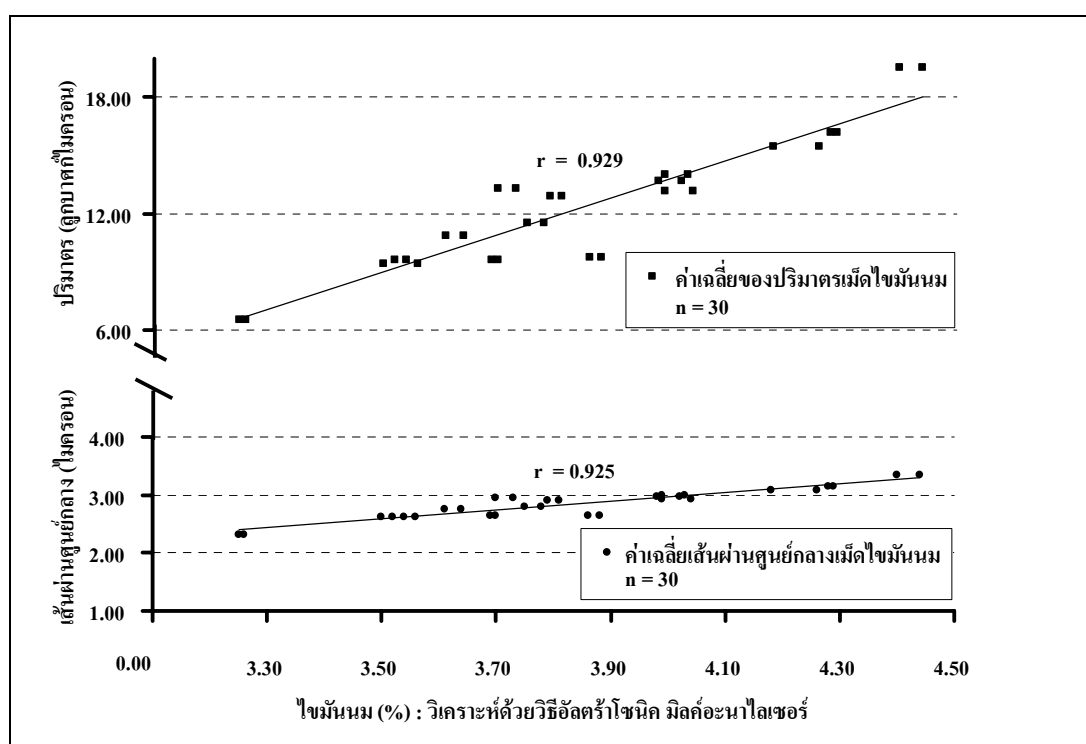
Mistry *et al.* (2002) รายงานว่า การกระจายตัวของกรดไขมันเป็นแบบ backbone อยู่บนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์การจัดเรียงตัวแบบเฉพาะ ซึ่งมีผลต่อจุดหลอมเหลวและความแข็ง (hardness) ไขมันนมของสัตว์เคี้ยวเอื้องมีลักษณะเฉพาะแตกต่างจากไขมันพืชเพราะมีสัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวโมเลกุลขนาดกลางและโมเลกุลขนาดใหญ่ (สายยาว) (C12: 0 ถึง C18: 0) ที่ตำแหน่ง *sn-1* และ *sn-2* สูง ส่วนกรดไขมันอิ่มตัวโมเลกุลขนาดเล็ก (สายสั้น) (C4: 0 ถึง C10: 0) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่ตรงตำแหน่ง *sn-3* ในทำนองเดียวกัน Christie (1994) ระบุว่ากรดไขมันอิ่มตัว C4:0 ถึง C10:0 ซึ่งเป็นองค์ประกอบของไขมันนมโคมีอยู่ประมาณ 9.2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไขมันทั้งหมด ส่วน C12: 0 ถึง C18: 0 มีประมาณ 53.5 เปอร์เซ็นต์ และกรดไขมันไม่อิ่มตัว C16: 1 ถึง C18:3 มีประมาณ 35.3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักไขมันทั้งหมด นอกจากนี้จากการศึกษาของ Wiking *et al.* (2004) พบว่าค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความเข้มข้นของ C16: 0, C16: 1, C18: 0 และ C18: 1 ในไขมันนม จากผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ ซึ่งแสดงการอ่านปริมาณของไขมันนมเป็นร้อยละหรือเปอร์เซ็นต์ไขมันนม ปรากฏว่าตัวอย่างนมดิบที่มีปริมาณไขมันนมสูงหรือมีค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมสูงมีแนวโน้มของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมใหญ่กว่านมดิบที่มีปริมาณของไขมันนมต่ำ อาจเป็นไปได้ที่ขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมใหญ่ขึ้นจึงมีค่าปริมาณไขมันนมสูง เพราะมีกรดไขมันอิ่มตัวสูง โดยเฉพาะกรดไขมันอิ่มตัวโมเลกุลขนาดกลางและโมเลกุลขนาดใหญ่มากกว่าโมเลกุลขนาดเล็ก

ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์จากทั้งสองโมเดล กับขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรของเม็ดไขมันนมมีลักษณะเป็นเส้นตรง (linear) ปรากฏค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) ระหว่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไขมันนมกับค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง และค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไขมันนมกับค่าเฉลี่ยปริมาตรของเม็ดไขมันนมมีค่าเท่ากับ 0.925 และ 0.929 ( $P < 0.01$ ) ตามลำดับ แสดงว่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมอย่างสูง นอกจากนี้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมกับค่าเฉลี่ยปริมาตรของเม็ดไขมันนมมีค่าเท่ากับ 0.993 ( $P < 0.01$ ) แสดงว่าเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมมีความสัมพันธ์สูง สอดคล้องกับปริมาตรของเม็ดไขมันนมในทิศทางเดียวกัน สำหรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ กับขนาดอนุภาคไขมันนมในตัวอย่างนมดิบแสดงในตารางที่ 11 และความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไขมันนมในตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ กับขนาดอนุภาคไขมันนม แสดงในภาพที่ 17

ตารางที่ 11 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค  
มิลค์อะนาไลเซอร์ กับขนาดอนุภาคไขมันนมในตัวอย่างนมดิบ

พารามิเตอร์	จำนวน	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)		
		ไขมันนม (%)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ( $\mu\text{m}$ )	ปริมาตร ( $\mu\text{m}^3$ )
ไขมันนม (%)	30	1.000	0.925**	0.929**
เส้นผ่านศูนย์กลาง ( $\mu\text{m}$ )	30	0.925	1.000	0.993**
ปริมาตร ( $\mu\text{m}^3$ )	30	0.929	0.993	1.000

\*\* สหสัมพันธ์มีนัยสำคัญยิ่ง ( $P < 0.01$ )

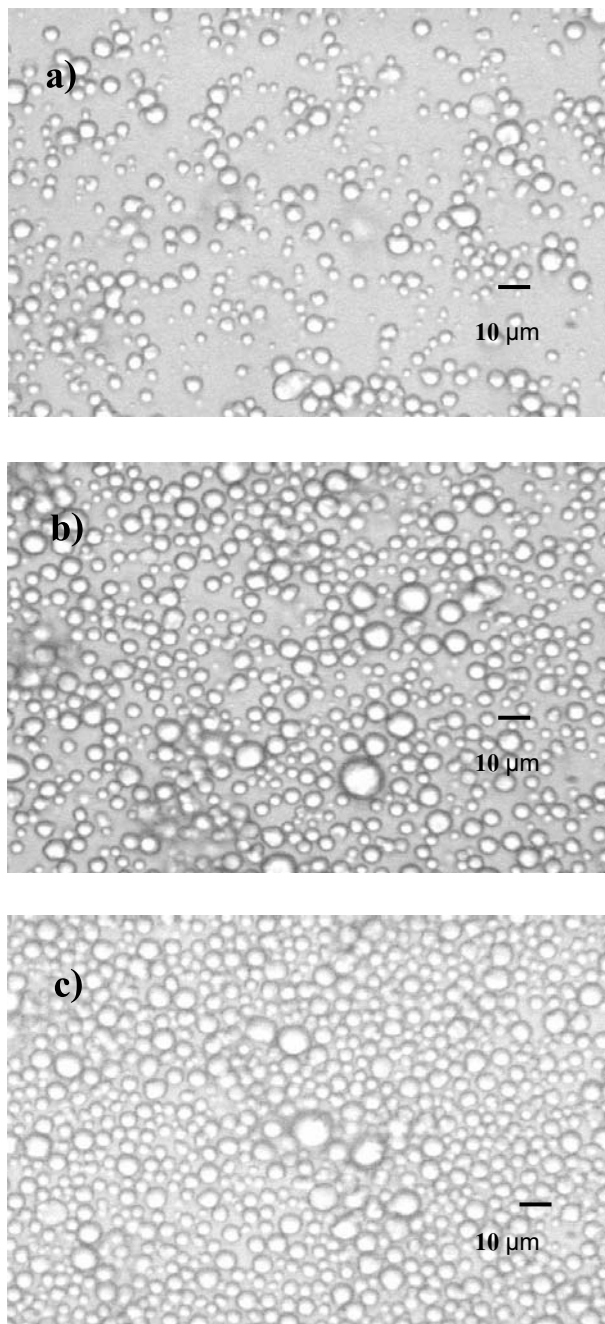


ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไขมันนมในตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตรา  
โซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ กับขนาดอนุภาคไขมันนมที่สำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

เมื่อพิจารณาการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมที่มีอิทธิพลต่อความผันแปรของปริมาณไขมันนมในตัวอยางนมดิบ ตามรายงานของ Hood (1981) พบว่าการทดลองให้อาหารโคนมที่เสริมไขมันจากเมล็ดพืชน้ำมัน (oilseed) ทรีทด้วยฟอร์มาลดีไฮด์อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 35 วัน ทำให้องค์ประกอบของไขมันนมมีกรดไขมันลิโนเลอิก (linoleic acid, C18: 2) เพิ่มขึ้นจาก 1.7 เป็น 27.4 เปอร์เซ็นต์ โดยมีสัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัว เช่น ไมริสติก (myristic acid, C14: 0) และ ปาล์มมิติก (palmitic acid, C16: 0) ลดลงครั้งหนึ่ง การเปลี่ยนแปลงในองค์ประกอบของกรดไขมันเป็นผลจากการลดลงของกรดไขมันที่สังเคราะห์ขึ้นในต่อมสร้างน้ำนม เพราะการให้อาหารที่มีการป้องกันไขมัน (protected lipid) นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมไขมันในอาหารดังกล่าวทำให้ปริมาณไขมันนมเพิ่มขึ้นจากปกติ 3.40 เปอร์เซ็นต์เป็น 4.53 เปอร์เซ็นต์ และขณะเดียวกันขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมเปลี่ยนแปลง พบว่ามีเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนม (volume/surface diameter,  $d_v$ ) เพิ่มขึ้นจากค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.21 ไมครอน เป็น 3.76 ไมครอน ในทำนองเดียวกัน Wiking *et al.* (2003) รายงานว่าการทดลองให้โคกินอาหาร โดยใช้สูตรอาหารชั้นที่มีกรดไขมันต่างกัน 3 กลุ่ม ได้แก่ High de novo (สูตรอาหารที่กระตุ้นการสังเคราะห์ไขมันนมในต่อมสร้างน้ำนม), Saturated (สูตรอาหารชั้นที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูง) และ Unsaturated (สูตรอาหารชั้นที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง) ทำให้น้ำมันจากโคที่ได้รับสูตรอาหารชั้นที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูง มีปริมาณไขมันนมเฉลี่ยเท่ากับ 5.0 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่า ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตร High de novo และ Unsaturated ซึ่งมีไขมันนม 4.0 และ 3.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมมีค่าประมาณ 4.50, 3.60 และ 3.50 ไมครอน ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าการให้ถั่วเหลืองอบ (roasted whole soybean) จำนวนมากในสูตรอาหารชั้นที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง มีผลต่อสัดส่วนของกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัว ได้แก่ C18: 1, C18: 2 และ C18: 3 ในน้ำมันสูงกว่าอาหารสูตรอื่น

อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาลักษณะความแตกต่างของขนาดเม็ดไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบโดยใช้วิธี microfiltration และแบ่งกลุ่มของขนาดเม็ดไขมันออกเป็นสองกลุ่มคือ small fat globules (SFG) ซึ่งมีขนาดอนุภาค 1 – 3 ไมครอน และ large fat globules (LFG) มีขนาดอนุภาคมากกว่า 5 ไมครอน และพบว่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่แยกจากนมดิบตัวอย่างเดียวกันมีกลุ่ม LFG ซึ่งแสดงเปอร์เซ็นต์ไขมันนมสูงกว่าและมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันมากกว่ากลุ่ม SFG ที่มีเปอร์เซ็นต์ไขมันนมต่ำกว่าและมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางต่ำกว่าเช่นกัน นอกจากนี้มีนมดิบที่มีอนุภาคเม็ดไขมันขนาดเล็ก ภายใต้อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ปรากฏว่ามีส่วนที่เรียกว่า 2L (bilayered, two fatty acid chain lengths) ซึ่งจัดเป็นโครงสร้างของไตรกลีเซอไรด์ น้อยกว่า นมดิบที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 5 ไมครอน (Michalski *et al.*, 2004)

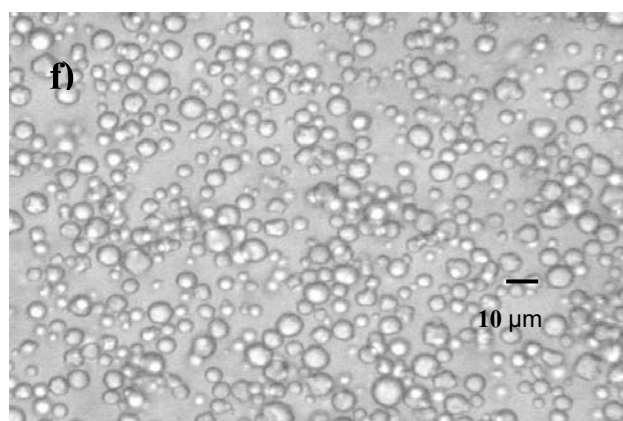
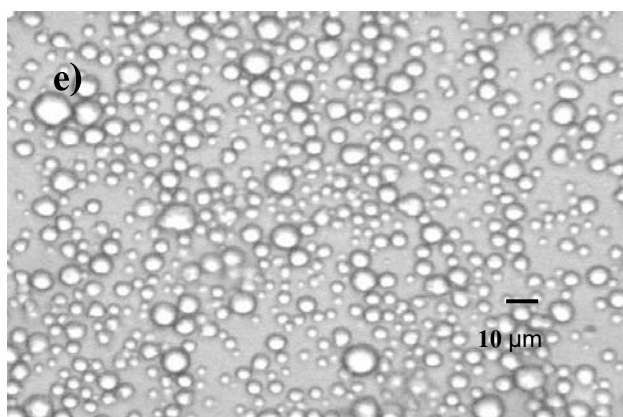
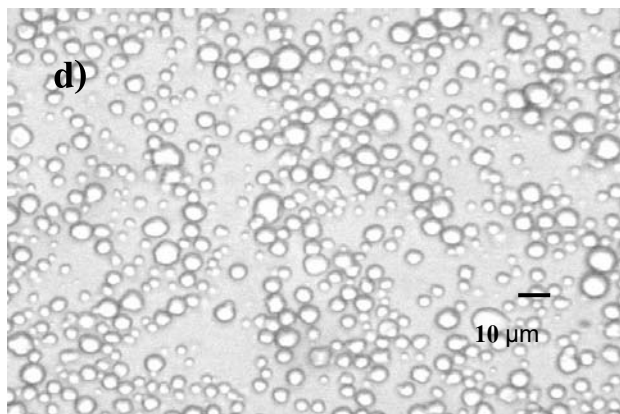
แม้ว่ายังไม่มีรายงานการใช้วิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ในการวิเคราะห์ไขมันนม เปรียบเทียบกับขนาดอนุภาคของเม็ดไขมัน แต่จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณไขมันนม ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีการดังกล่าวมีความสัมพันธ์กันสูงกับขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม ดังนั้นเพื่อเป็นการสนับสนุนข้อมูลดังกล่าวจึงพิจารณาจากการศึกษาด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ร่วมด้วย ดังแสดงในภาพที่ 18a) ซึ่งเป็นภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าการกระจายตัวของอนุภาคเม็ดไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบที่มีไขมันนมประมาณ 3.50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันนมประมาณ 2.60 ไมครอน สังเกตภาพพบว่าการกระจายตัวของอนุภาคไขมันและการจัดเรียงตัวมีความหนาแน่นน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างนมดิบ ที่มีไขมันนมประมาณ 3.80 และ 4.20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่ามีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันนมประมาณ 2.90 และ 3.10 ไมครอนตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 18 b) และ c)



ภาพที่ 18 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบสำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์  
 ที่มีโปรแกรม image analysis กำลังขยาย 400 เท่า เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยไขมันนม (%):  
 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมัน ( $\mu\text{m}$ ) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์  
 อะนาไลเซอร์ a) 3.50: 2.60 b) 3.80: 2.90 c) 4.20: 3.10  
 ( — bar = 10  $\mu\text{m}$ )

เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายดังกล่าวอาจมีความเป็นไปได้ว่า การวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ได้ปริมาณไขมันนมที่มีเปอร์เซ็นต์สูง น่าจะมาจากผลของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมซึ่งส่วนมากมีขนาดใหญ่ และมีอยู่เป็นจำนวนมากในน้ำนม ดังนั้นโอกาสในการจัดเรียงตัวของอนุภาคเม็ดไขมันนมสามารถเกิดการใกล้ชิดกันระหว่างอนุภาคได้มากยิ่งขึ้น จึงมีแนวโน้มของจัดเรียงตัวกันอย่างหนาแน่นมาก และอาจส่งผลต่อคลื่นเสียงอัลตราโซนิกเมื่อเคลื่อนผ่านอนุภาคเม็ดไขมันนมที่มีสถานะหนาแน่น จึงมีสมมติฐานว่าค่าความเร็วสำหรับการสะท้อนและการดูดซับคลื่นอัลตราโซนิกของอนุภาคเม็ดไขมันนม เกิดขึ้นได้ดีและมีความรวดเร็วอยู่ในระดับหนึ่ง โอกาสของการประมวลผลเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมสูงอาจมากขึ้น แต่เมื่อเปรียบเทียบกับนมดิบที่มีปริมาณไขมันมนน้อยกว่า ปรากฏว่าขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมซึ่งส่วนมากมีขนาดเล็กหรือมีอนุภาคเม็ดไขมันนมขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้การกระจายตัวของขนาดอนุภาคไขมันนมมีโอกาสใกล้ชิดกันได้น้อยลง การจัดเรียงตัวจึงเกิดในสภาพที่เบาบางกว่าหรือหนาแน่นน้อย อาจส่งผลต่อค่าความเร็วของอัลตราโซนิกเช่นเดียวกัน โอกาสสำหรับการสะท้อนและการดูดซับคลื่นอัลตราโซนิกของอนุภาคเม็ดไขมันจึงแตกต่างไปจากสภาพที่มีความหนาแน่นมากกว่า ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่การประมวลผลให้เปอร์เซ็นต์ไขมันนมต่ำกว่า

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาตัวอย่างนมดิบที่มีการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องมือดังกล่าว ซึ่งให้ผลของปริมาณไขมันนมใกล้เคียงกันพบว่ามีค่าเท่ากับ 4.00, 4.00 และ 3.98 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันนมเท่ากับ 2.93, 2.99 และ 2.97 ไมครอนตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 19d), e) และ f) ข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าหากใช้วิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ วิเคราะห์ตัวอย่างนมดิบที่มีปริมาณไขมันเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน ขนาดอนุภาคไขมันนมมีความใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตาม McClements (1995) รายงานว่าอัลตราโซนิกสามารถใช้ในการตรวจวัดขนาดอนุภาคในสภาพอิมัลชันได้ ทั้งนี้อัลตราโซนิกสามารถกระจายได้ทั่วไปในตัวอย่างนม ขนาดและความเข้มข้นของอนุภาคในตัวอย่างนมสามารถใช้ค่าความเร็วและค่า attenuation coefficient ของอัลตราโซนิกที่เปลี่ยนแปลงเพื่อคำนวณตามสมการฟิสิกส์แล้วประเมินหาขนาดอนุภาคของเม็ดไขมันนมและเคซีนไมเซลล์ (casein micelles) ได้ เมื่อแปรผลแล้วสามารถรายงานขนาดอนุภาคตั้งแต่ 0.02 ไมครอน จนถึงหนึ่งมิลลิเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับช่วงความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิก ดังนั้นวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์สามารถบ่งชี้ให้เห็นว่าการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องมือนี้เป็นไปตามหลักการตรวจวัดขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมโดยตรงจากคลื่นเสียงอัลตราโซนิก ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคไขมันนมกับปริมาณไขมันนมในทิศทางเดียวกัน จึงมีความน่าเชื่อถือในการนำไปใช้วิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม โดยเฉพาะไขมันนม



ภาพที่ 19 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบสำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์  
 ที่มีโปรแกรม image analysis กำลังขยาย 400 เท่า เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยไขมันนม (%):  
 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมัน (μm) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์  
 อะนาไลเซอร์ d) 4.00: 2.93 e) 4.00: 2.99 f) 3.98: 2.97  
 ( — bar = 10 μm)

**การทดลองที่ 3 ศึกษาขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม ในตัวอย่างนมดิบที่ไม่ผ่านและผ่านการโฮโมจีไนส์ ด้วยความดันแบบ Single-stage และ Two-stage ต่อปริมาณไขมันนมเมื่อวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธี อัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์**

แม้ว่าจากการทดลองที่ 2 วิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ สามารถประเมินค่าของขนาดอนุภาคไขมันนมเป็นเปอร์เซ็นต์ไขมันนมได้ วิธีการดังกล่าวบ่งชี้ให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไขมันนมกับขนาดอนุภาคไขมันนมทั้งเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมและปริมาตรของเม็ดไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบซึ่งปรากฏว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกัน จากการทดลองนี้เมื่อดำเนินการวิเคราะห์ไขมันนมจากตัวอย่างนมที่ผ่านกรรมวิธีโฮโมจีไนส์ด้วยการใช้ความดันแบบ Single-stage และ Two-stage ทำให้ไขมันนมมีขนาดอนุภาคเปลี่ยนแปลง ดังแสดงในตารางที่ 12 เมื่อเปรียบเทียบขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมจากการสำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ผลปรากฏว่านมดิบที่ไม่ผ่านการโฮโมจีไนส์มีเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันเฉลี่ยเท่ากับ 3.02 ไมครอน และมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า ( $P < 0.05$ ) นมที่ผ่านความร้อนก่อน (preheated) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จึงผ่านการโฮโมจีไนส์ทั้งสองแบบ เมื่อพิจารณารูปแบบของการโฮโมจีไนส์ทั้งสองประเภท ขณะที่ใช้ระดับความดันเพิ่มสูงขึ้นแนวโน้มของการทำให้ขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมลดลง การโฮโมจีไนส์ด้วยความดันแบบ Single-stage ที่ระดับความดันรวม 100, 150, 200, 250, และ 300 bar ทำให้มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมเท่ากับ 1.21, 1.09, 0.95, 0.81 และ 0.76 ไมครอนตามลำดับ สำหรับนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันแบบ Two-stage ที่ระดับความดันรวมในช่วงเดียวกัน ความดันขั้นที่ 1 (first-stage) เท่ากับ 60, 110, 160, 210 และ 260 bar ต่อความดันขั้นที่ 2 (second-stage) เท่ากับ 40 bar โดยให้ระดับความดันรวมมีค่าเท่ากับความดันแบบ Single-stage คือ 60/40, 110/40, 160/40, 210/40, และ 260/40 bar ตามลำดับ พบว่ามีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันนมเท่ากับ 1.09, 0.79, 0.50, 0.47 และ 0.44 ไมครอนตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระหว่างความดันรวมที่ระดับเท่ากัน พบว่าการโฮโมจีไนส์ทั้งสองแบบที่ความดันระดับ 100 bar ทำให้ขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่เมื่อพิจารณาความดันรวมระดับ 150 ถึง 300 bar ปรากฏว่าการโฮโมจีไนส์แบบ Two-stage มีแนวโน้มของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมลดลงเร็วกว่า ( $P < 0.05$ ) รูปแบบ Single-stage นอกจากนี้เส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันนมที่โฮโมจีไนส์แบบ Two-stage ที่ระดับความดันรวม 200, 250 และ 300 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในภาพที่ 20

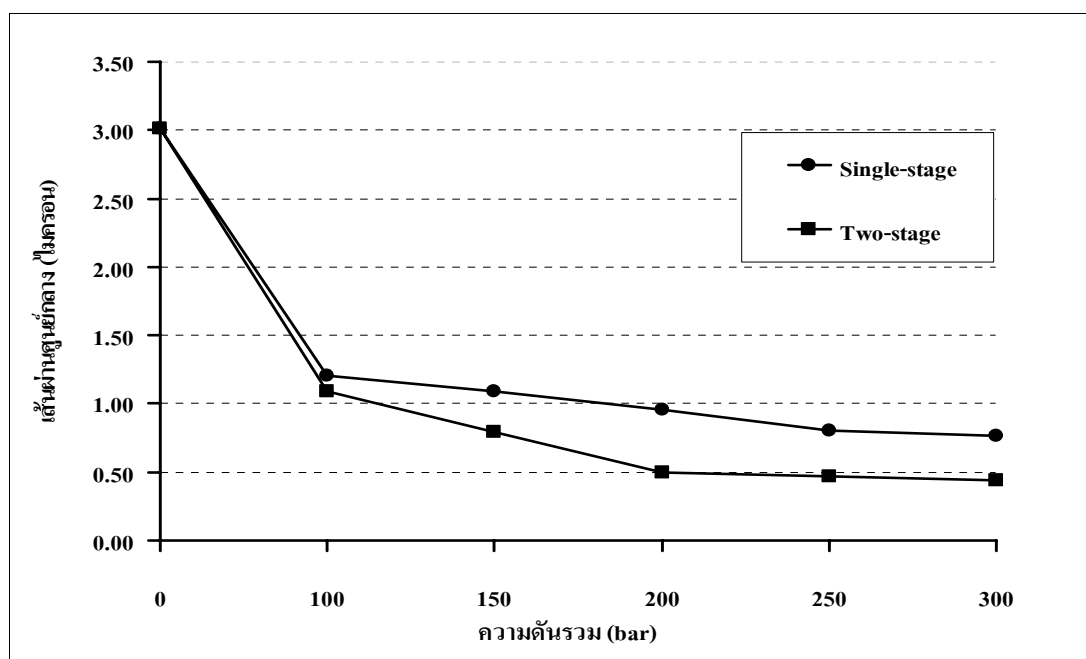
ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลาง  $\pm$  SE ในตัวอย่างนมดิบที่ไม่ผ่านและผ่านการโฮโมจิไนส์ ด้วยความดันแบบ Single-stage และ แบบ Two-stage

ความดันรวม (bar)	Raw milk	รูปแบบโฮโมจิไนส์	
		Single-stage	Two-stage <sup>1</sup>
0	3.016 $\pm$ 0.177 <sup>n</sup>		
100		1.206 $\pm$ 0.010 <sup>ข</sup>	1.091 $\pm$ 0.032 <sup>ขค</sup>
150		1.093 $\pm$ 0.016 <sup>ขค</sup>	0.791 $\pm$ 0.046 <sup>ขง</sup>
200		0.952 $\pm$ 0.014 <sup>ขง</sup>	0.498 $\pm$ 0.040 <sup>ขฉ</sup>
250		0.805 $\pm$ 0.024 <sup>ขฉ</sup>	0.472 $\pm$ 0.024 <sup>ขฉ</sup>
300		0.762 $\pm$ 0.019 <sup>ขฉ</sup>	0.439 $\pm$ 0.024 <sup>ขฉ</sup>

n = 66

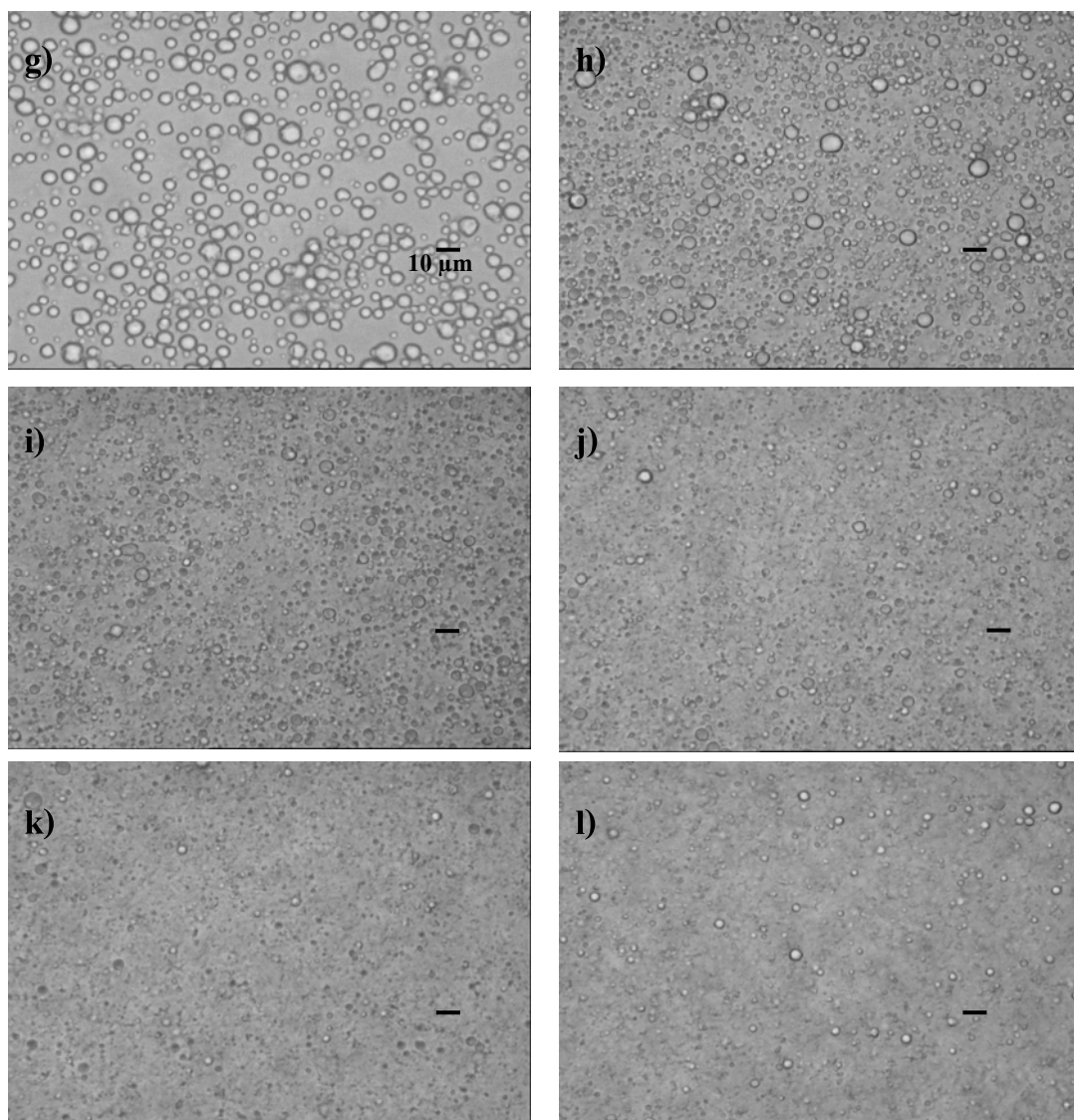
<sup>1</sup>Two-stage ใช้ความดันของขั้นที่ 2 (second-stage) เท่ากับ 40 bar โดยมีความดันขั้นที่ 1 (first-stage) เท่ากับ 60, 110, 160, 210 และ 260 bar ตามลำดับ

กขกขจจ อักษรต่างกันภายในตารางเดียวกันแสดงความแตกต่าง (P<0.05)

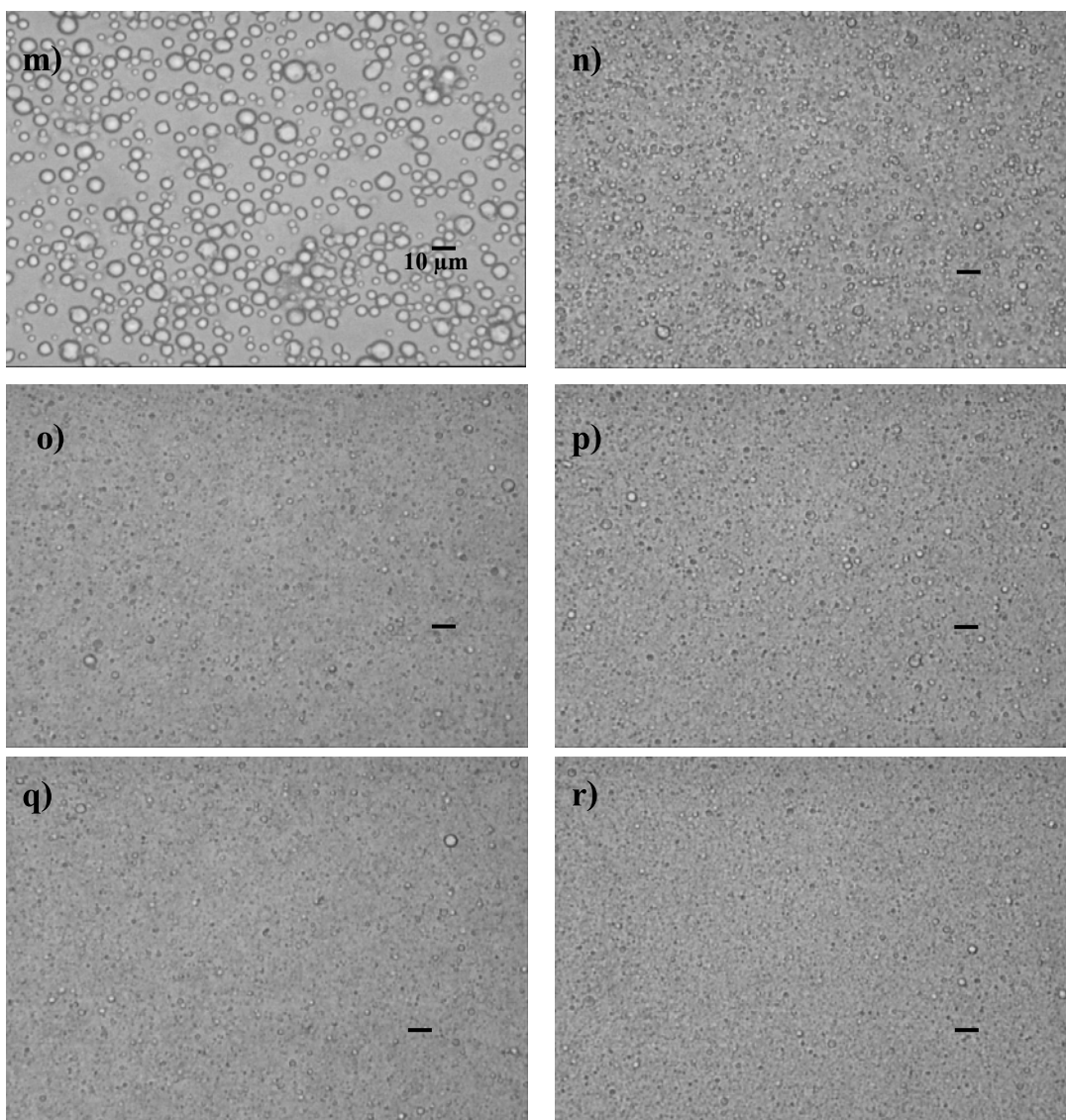


ภาพที่ 20 เปรียบเทียบความแตกต่างของเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบปกติกับนมที่ผ่านการโฮโมจิไนส์แบบ Single-stage กับ Two-stage ด้วยความดันต่างกัน

อย่างไรก็ตามพบว่าผลการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Hayes and Kelly (2003) ที่รายงานถึงการให้ความร้อนแก่นมก่อน (preheated) ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วทำการโฮโมจีไนส์อย่างต่อเนื่องโดยใช้ความดัน 180 bar (150/30) แบบ Two-stage สามารถลดขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมได้ เมื่อสำรวจการกระจายตัวของอนุภาคเม็ดไขมันด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด laser light-scattering พบว่ามีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันนมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับนมดิบที่ไม่ผ่านการโฮโมจีไนส์ เช่นเดียวกับรายงานของ Thiebaud *et al.* (2003) ที่อธิบายถึงการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันในระดับที่เหมาะสมระหว่าง 200 – 500 bar ซึ่งใช้กันอย่างแพร่หลายในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์นม ลดขนาดของอนุภาคเม็ดไขมันนม (milk fat globules sizes) จากนมปกติที่มีขนาดอนุภาคเม็ดไขมันประมาณ 1-8 ไมครอน ลดลงเหลือ 0.3 – 0.8 ไมครอน การทดลองนี้เมื่อพิจารณาที่ความดันรวมระดับ 200 – 300 bar โดยใช้รูปแบบ Two-stage พบว่าทำให้มีขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมอยู่ระหว่างช่วงดังกล่าวตามรายงานข้างต้น นอกจากนี้จากการทดลองครั้งนี้เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายที่สำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีโปรแกรม image analysis ร่วมด้วย ปรากฏว่านมดิบเมื่อผ่านการโฮโมจีไนส์ที่ความดันระดับสูงขึ้นไปมีผลกระทบทำให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันนมลดลง สำหรับนมที่โฮโมจีไนส์แบบ Two-stage พบว่ามีผลทำให้อนุภาคเม็ดไขมันนมมีขนาดเล็กกว่าการโฮโมจีไนส์แบบ Single-stage ดังแสดงในภาพที่ 21 (g-l) และ ภาพที่ 22 (m-r)



ภาพที่ 21 เปรียบเทียบการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบ (g) กับนมโฮโมจีไนส์ความดันแบบ Single-stage ที่ระดับความดัน 100(h), 150(i), 200(j), 250(k) และ 300(l) bar ตามลำดับ เมื่อสำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า (— bar = 10  $\mu\text{m}$ )



ภาพที่ 22 เปรียบเทียบการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบ (m) กับนมโฮโมจีไนส์ความดันแบบ Two-stage ที่ระดับความดัน 60/40 (n), 110/40(o), 160/40(p), 210/40(q) และ 260/40(r) bar ตามลำดับ เมื่อสำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า ( — bar = 10  $\mu$ m)

เมื่อพิจารณาการใช้ตัวอย่างนมดิบไม่ผ่านการโฮโมจีไนส์ ซึ่งมีปริมาณไขมันนมสำหรับตัวอย่างนมดังกล่าววิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์อยู่ระหว่าง 3.76 ถึง 4.33 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยไขมันนมเท่ากับ 4.01 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่า ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับนมผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสก่อนแล้วทำการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันแบบ Single-stage ใช้ความดันรวมที่ระดับเท่ากับ 100, 150, 200, 250, และ 300 bar ตามลำดับ ปรากฏว่าแตกต่างกับการทดลองที่ 2 เพราะการอ่านค่าปริมาณไขมันจากตัวอย่างนมที่มีขนาดอนุภาคเล็กลงมีความผิดพลาด คือมีผลทำให้ปริมาณไขมันนมเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.05, 4.10, 4.11, 4.11 และ 4.13 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 13 เมื่อพิจารณาแนวโน้มของไขมันนมที่วิเคราะห์เปรียบเทียบกับนมดิบปกติ พบว่ามีปริมาณไขมันนมเพิ่มขึ้นมากกว่านมดิบปกติเท่ากับ 0.04, 0.09, 0.10, 0.10 และ 0.12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 23 นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการใช้ระดับความดันรวมตั้งแต่ 150 ถึง 300 bar พบว่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ไขมันนมเมื่อวิเคราะห์ในช่วงความดันดังกล่าวมีค่ามากกว่า ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ความดันระดับ 100 bar ส่วนตัวอย่างนมดิบที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันแบบ Two-stage โดยให้ระดับความดันรวมมีค่าเท่ากับความดันแบบ Single-stage เมื่อทำการวิเคราะห์ไขมันนมตามวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ปรากฏว่าปริมาณไขมันนมเฉลี่ยเท่ากับ 4.12, 4.15, 4.16, 4.18, และ 4.20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่า ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับนมดิบไม่ผ่านการโฮโมจีไนส์เช่นเดียวกับความดันแบบ Single-stage แต่มีแนวโน้มของปริมาณไขมันนมที่อ่านได้มากกว่าแบบ Single-stage และมีปริมาณไขมันนมเพิ่มขึ้นมากกว่านมดิบปกติเท่ากับ 0.11, 0.14, 0.15, 0.17 และ 0.19 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 23) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณากรณีที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ทั้งสองประเภทพบว่ามีแนวโน้มของไขมันนมที่วิเคราะห์ได้เพิ่มขึ้นตามระดับความดันที่สูงขึ้น โดยการโฮโมจีไนส์แบบ Two-stage มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นมากกว่าแบบ Single-stage และเมื่อคำนึงถึงการให้ระดับความดันรวมเท่ากัน ปรากฏว่าการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันแบบ Two-stage มีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์มากกว่า ( $P < 0.05$ ) การโฮโมจีไนส์ด้วยความดันแบบ Single-stage นอกจากนี้เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคของเม็ดไขมันนมที่ลดลงจากตัวอย่างนมดิบที่ผ่านระบบโฮโมจีไนส์แล้ววิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ทันที ปรากฏว่าปริมาณไขมันนมแตกต่างกับนมดิบปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ขณะเดียวกันเมื่อการอ่านค่าของขนาดอนุภาคเม็ดไขมันที่ลดลงทำให้ผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ มีปริมาณไขมันนมเพิ่มขึ้น โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) ระหว่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไขมันนมกับค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ -0.9016 ( $P < 0.01$ ) ซึ่งความสัมพันธ์ดังกล่าว แสดงในภาพที่ 24

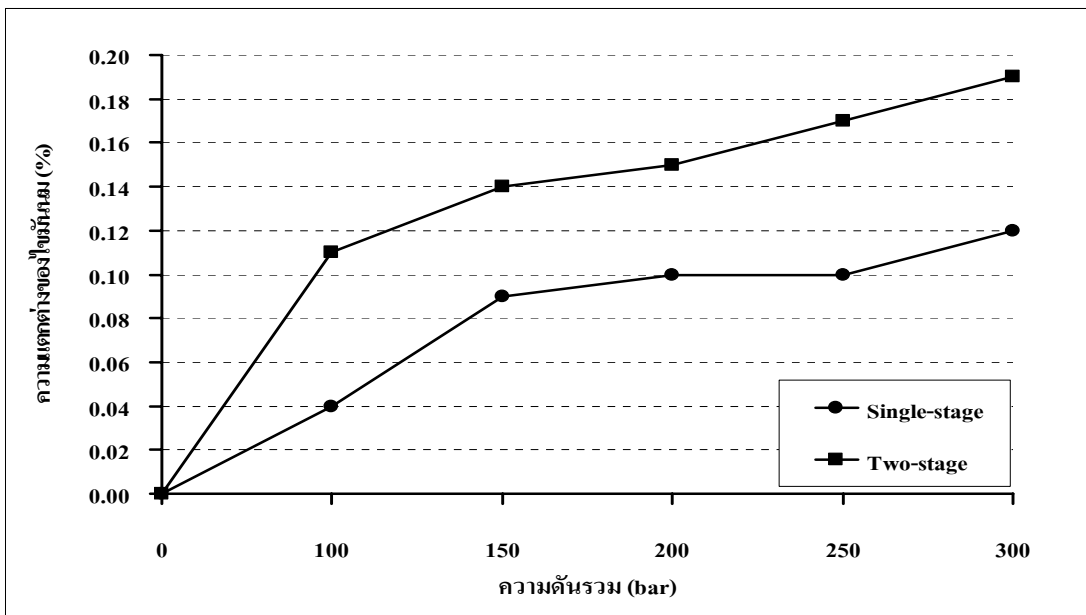
**ตารางที่ 13** ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไขมัน  $\pm$  SE ในตัวอย่างนมดิบที่ไม่ผ่านและผ่านการโฮโมจีไนส์ ด้วยความดันแบบ Single-stage และแบบ Two-stage เมื่อวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่อง อัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์

ความดันรวม (bar)	Raw milk	รูปแบบโฮโมจีไนส์	
		Single-stage	Two-stage <sup>1</sup>
0	4.009 $\pm$ 0.085 <sup>n</sup>		
100		4.052 $\pm$ 0.094 <sup>n</sup>	4.122 $\pm$ 0.101 <sup>กข</sup>
150		4.098 $\pm$ 0.089 <sup>ข</sup>	4.154 $\pm$ 0.100 <sup>ขก</sup>
200		4.112 $\pm$ 0.098 <sup>ข</sup>	4.156 $\pm$ 0.095 <sup>ขก</sup>
250		4.110 $\pm$ 0.093 <sup>ข</sup>	4.182 $\pm$ 0.090 <sup>กข</sup>
300		4.129 $\pm$ 0.092 <sup>กข</sup>	4.200 $\pm$ 0.090 <sup>n</sup>

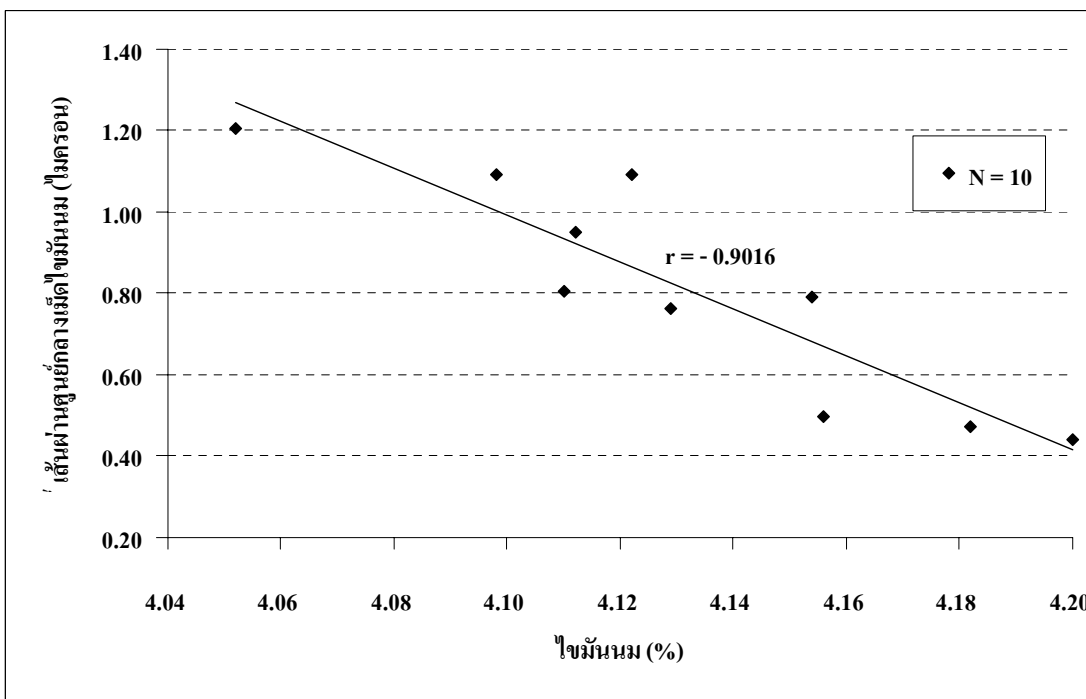
n = 66

<sup>1</sup>Two-stage ใช้ความดันของขั้นที่ 2 (second-stage) เท่ากับ 40 bar โดยมีความดันขั้นที่ 1 (first-stage) เท่ากับ 60, 110, 160, 210 และ 260 bar ตามลำดับ

<sup>กขขจ</sup> อักษรต่างกันภายในตารางเดียวกันแสดงความแตกต่าง (P<0.05)



ภาพที่ 23 เปรียบเทียบแนวโน้มความแตกต่างเปอร์เซ็นต์โพโรซิติตีไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มีลค์อะนาไลเซอร์ ของตัวอย่างนมดิบปกติกับนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์แบบ Single-stage กับ Two-stage ด้วยความดันต่างกัน



ภาพที่ 24 ความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมกับเปอร์เซ็นต์โพโรซิติตีไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มีลค์อะนาไลเซอร์ ของตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์แบบ Single-stage และ Two-stage ด้วยความดันต่างกัน

อย่างไรก็ตามยังไม่มียางานการใช้คลื่นเสียงอัลตราโซนิค สำหรับการวิเคราะห์ไขมันนม จากตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์มาก่อน แต่ปรากฏว่าจากการทดลองในครั้งนี้มีความขัดแย้งกับการทดลองที่ 2 เนื่องจากขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม ซึ่งวัดจากค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันนมที่ลดลงจึงทำให้มีลักษณะผกผันกับปริมาณไขมันนมที่เพิ่มสูงขึ้น (แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เป็นไปในเชิงลบ) ขณะที่ระดับความดันของการโฮโมจีไนส์เพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นดังกล่าว จึงนำพารามิเตอร์ที่เป็นองค์ประกอบของน้ำนม โดยมีความสัมพันธ์กับปริมาณไขมันนมมาช่วยอธิบาย ซึ่งประกอบด้วยค่าปริมาณเนื้อนมไม่รวมมันเนย (SNF) ปริมาณโปรตีน และคุณสมบัติทางกายภาพของนม เช่น ความหนาแน่น ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากนมผ่านกระบวนการโฮโมจีไนส์ เนื่องจากวิธีการใช้เครื่องอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์สามารถแสดงค่าพารามิเตอร์ของเปอร์เซ็นต์เนื้อนมไม่รวมมันเนย เปอร์เซ็นต์โปรตีน และค่าความหนาแน่นได้พร้อมกับค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนม จากการวิเคราะห์ข้อมูลขององค์ประกอบน้ำนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันทั้งสองแบบความสัมพันธ์ระหว่างไขมันนมที่พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้ระดับความดันเพิ่มขึ้น กับองค์ประกอบของน้ำนมและความหนาแน่น พบว่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) ระหว่างไขมันนมกับเนื้อนมไม่รวมมันเนยและโปรตีน มีค่าเท่ากับ  $-0.140$  และ  $-0.094$  ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 14 นั้นแสดงให้เห็นว่าปริมาณไขมันนมและเนื้อนมไม่รวมมันเนยที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์ มีความสัมพันธ์กันน้อยมากและมีทิศทางตรงข้าม หมายถึงว่าเมื่อการวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันเพิ่มขึ้น จะพบว่าเปอร์เซ็นต์เนื้อนมไม่รวมมันเนยลดลงเพียงเล็กน้อย ที่เป็นนี้อาจเป็นเพราะว่าทั้งสองพารามิเตอร์เป็นอิสระต่อกัน ซึ่งตรงกับรายงานของ Eon Trading (2001) และ Weber Scientific (2003) ที่ระบุว่าเครื่องระบบอัลตราโซนิคที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม ในส่วนของการวิเคราะห์ไขมันนมและเนื้อนมไม่รวมมันเนยสามารถวิเคราะห์ได้โดยตรง (directly measured values) จากฟังก์ชันการทำงานของระบบอัลตราโซนิค สำหรับปริมาณของโปรตีนและความหนาแน่นที่วิเคราะห์ได้นั้น มาจากการคำนวณตามสมการทางฟิสิกส์ที่เหมาะสม และสามารถประมวลผลโดยไมโครโปรเซสเซอร์ (microprocessor) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้โดยปรากฏว่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมกับเปอร์เซ็นต์โปรตีนมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์น้อยมาก ( $r = -0.094$ ) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างเนื้อนมไม่รวมมันเนยกับโปรตีน ปรากฏว่ามีค่าเท่ากับ  $0.997$  ( $P < 0.01$ ) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันสูง นั้นหมายถึงเมื่อการอ่านเปอร์เซ็นต์เนื้อนมไม่รวมมันเนยสูงขึ้น พบว่าการอ่านค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนจากการวิเคราะห์ด้วยอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์สูงขึ้นเช่นเดียวกัน ดังนั้นจากการทดลองนี้จึงอาจมีความเป็นไปได้ว่าค่าปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ถูกกำหนดโดยพารามิเตอร์ของปริมาณเนื้อนมไม่รวมมันเนย เนื่องจากเนื้อนมไม่รวมมันเนยโดย

ปกติมีค่าอยู่ระหว่าง 7.9 – 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยอยู่ประมาณ 8.8 เปอร์เซ็นต์ ในนมทั่วไป ประกอบด้วยแลคโตสประมาณ 4.60 เปอร์เซ็นต์ ร่องลงมากคือ โปรตีนประมาณ 3.25 เปอร์เซ็นต์ แร่ธาตุประมาณ 0.65 เปอร์เซ็นต์ และองค์ประกอบอื่น (Goff, 1999) ดังนั้นมีความเป็นไปได้ที่อาจจะพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเนื้อมันรวมมันเนยกับปริมาณ โปรตีนที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันสูง นอกจากนี้เมื่อพิจารณาคูสมบัติทางกายภาพของน้ำนม เช่น ความหนาแน่น ปรากฏว่าความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมกับความหนาแน่นของนม เมื่อผ่านการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันแบบ Single-stage และTwo-stage แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.445 ( $P < 0.01$ ) (ตารางที่ 14) นั่นคือ เมื่อการอ่านค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมสูงขึ้น จะพบว่าค่าความหนาแน่นของนมมีแนวโน้มลดลงค่อนข้างมาก

**ตารางที่ 14** ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างไขมันนมกับองค์ประกอบน้ำนมและความหนาแน่น เมื่อผ่านการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันแบบ Single-stage และTwo-stage

พารามิเตอร์	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)			
	ไขมันนม	เนื้อมันรวมมันเนย	โปรตีน	ความหนาแน่น
ไขมันนม (%)	1.000	-0.140	-0.094	-0.445**
เนื้อมันรวมมันเนย(%)	-0.140	1.000	0.997**	0.948**
โปรตีน(%)	-0.094	0.997**	1.000	0.932**
ความหนาแน่น (g ml <sup>-1</sup> )	-0.445**	0.948**	0.932**	1.000

N = 60

\*\* สหสัมพันธ์มีนัยสำคัญยิ่ง ( $P < 0.01$ )

Trout (1950) รายงานว่า ค่าความหนาแน่นของนมที่ลดลงเมื่อวิเคราะห์จากตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ มีความเป็นไปได้ที่เกิดจากผลกระทบของการโฮโมจีไนส์นมแล้วทำให้เกิดการเพิ่มของอากาศเข้าไปในน้ำนม สอดคล้องกับการทดลองนี้ที่พบว่ามีความหนาแน่นของนมลดลงเมื่อวิเคราะห์ด้วยตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ อย่างไรก็ตามค่าความหนาแน่นของนมมีความสำคัญสำหรับการประเมินเนื้อมรวม (total solids) และเนื้อมไม่รวมมันเนยด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า hydrometers นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์นมที่มีไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ เนื้อมไม่รวมมันเนยประมาณ 8.95 เปอร์เซ็นต์มีความหนาแน่นลดลง เมื่อวิเคราะห์ที่อุณหภูมิสูงขึ้น สำหรับนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ เมื่อวิเคราะห์ที่อุณหภูมิสูงขึ้น ค่าความหนาแน่นลดลงเช่นเดียวกัน (Goff and Hill, 1993)

เนื่องจากการวิเคราะห์ไขมันนมจากตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันต่างกัน ทั้งสองรูปแบบ ทำให้มีผลต่อการอ่านค่าปริมาณไขมันนมตามวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ ซึ่งปริมาณไขมันนมมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนม รวมทั้งเนื้อมไม่รวมมันเนย โปรตีน และความหนาแน่น ในกรณีที่มีการอ่านค่าไขมันนมได้เพิ่มขึ้น ขณะที่ขนาดอนุภาคเม็ดไขมันลดลง อาจเป็นเพราะการโฮโมจีไนส์นมทำให้เม็ดไขมันนมแตกออกจากสภาพปกติและมีเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดไขมันนมลดลง ดังนั้นพื้นที่ผิวที่เกิดขึ้นใหม่ของอนุภาคเม็ดไขมันนมจึงเพิ่มขึ้นประมาณ 5 – 10 เท่า เพื่อความคงตัวของพื้นผิวใหม่นี้จึงทำให้เกิดการดูดซับ โปรตีนนมได้แก่ เคซีน และโปรตีนเวย์ไว้ด้วย (Hayes and Kelly, 2003) การเพิ่มพื้นที่ผิวของอนุภาคเม็ดไขมันนม เกิดจากเคซีนซึ่งปกติมีอยู่ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ที่บริเวณพื้นผิวอนุภาคเม็ดไขมันนม แต่เพิ่มขึ้นเป็น 25 เปอร์เซ็นต์เมื่อนมถูกโฮโมจีไนส์ การถูกดูดซับไปยังพื้นผิวเม็ดไขมันนม เรียกว่า resurfaced (Trout, 1950) หรือการเกิดเป็นสภาพใหม่นี้เรียกว่า new artificial membrane เกิดขึ้นเกือบทั้งหมดของ plasma proteins ซึ่งมีประมาณ 3/4 เริ่มปกคลุมโดยเคซีนและเกิดขึ้นพร้อมแรงดึงผิวที่เพิ่มขึ้นถึง  $15 \text{ mN m}^{-1}$  (Michalski *et al.*, 2001; Michalski *et al.*, 2002) นอกจากนี้ Cano-ruiz and Richter (1997) รายงานว่าอนุภาคเม็ดไขมันนมที่สร้างขึ้นใหม่ของนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ถูกห่อหุ้มด้วย plasma proteins ซึ่งเป็นการทำให้พื้นที่ผิวบริเวณเปลือกนอกเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงทำให้อนุภาคไขมันนมมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นได้ อย่างไรก็ตามอนุภาคเม็ดไขมันที่มีขนาดเล็กลงแต่มีพื้นที่ผิวมากขึ้น รวมทั้งมีการดูดซับโปรตีน โดยเฉพาะเคซีน และมีจำนวนของอนุภาคเม็ดไขมันเพิ่มขึ้นเป็น 125 เท่า หรือเพิ่มขึ้นจาก  $3.0 \times 10^9$  เป็น  $3.75 \times 10^{11}$  ต่อปริมาตรนมหนึ่งมิลลิลิตร (Trout, 1950) รวมทั้งการเพิ่มความหนาแน่นของอนุภาคเม็ดไขมันนม ด้วยเหตุนี้ อาจทำให้การตรวจวัดปริมาณไขมันนมจากตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์ด้วยคลื่นเสียงอัลตราโซนิก เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์

ของความเร็วรวมทั้งการสะท้อนและการดูดซับของคลื่นเสียงอัลตราโซนิกต่ออนุภาคเม็ดไขมันนมที่สร้างขึ้นใหม่ได้ดีกว่าสภาพปกติ จึงส่งผลต่อการประมวลผลปริมาณไขมันนมในลักษณะว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้น

ในทำนองเดียวกันการลดลงของปริมาณโปรตีนจากการทดลองนี้ เมื่อวิเคราะห์ด้วยอัลตราโซนิก มีความเป็นไปได้ที่การอ่านค่าปริมาณเนื้อมันรวมมันเนยลดลง โดยเฉพาะเกิดการเข้าไปแทนที่ของโปรตีน เช่น เคซีนไมเซลล์ และโปรตีนเวย์บนพื้นที่ผิวซึ่งสร้างขึ้นมาใหม่ การนำเสนอปรากฏการณ์ดังกล่าว Michalski *et al.* (2002) รายงานว่า อนุภาคที่แพร่กระจายบนพื้นผิวของเม็ดไขมันนมที่เกิดขึ้นใหม่มีความเหมือนกับ casein micelle sub-units ซึ่งสามารถตรวจสอบได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน นอกจากนี้ Huppertz *et al.* (2003) ทำการศึกษาอิทธิพลของความดันต่อองค์ประกอบน้ำนม พบว่านมดิบที่วิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl มีปริมาณโปรตีน (protein content) เท่ากับ 3.87 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีนใน skim milk เท่ากับ 3.80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ตัวอย่างนมเดียวกันที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส แล้วผ่านความดัน 200 MPa (2000 bar) ทำการวิเคราะห์โปรตีนพบว่าปริมาณลดลงน้อยกว่าตัวอย่างนมดิบ อย่างไรก็ตาม Cano-ruiz and Richter (1997) รายงานว่าการให้ความร้อนแก่เนมก่อนแล้วผ่านการโฮโมจีไนส์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเม็ดไขมัน (Milk Fat Globule Membrane, MFGM) ได้ดีที่สุด โดยเฉพาะการให้ความร้อนแก่เนมเป็นสาเหตุให้ MFGM เกิดการเปลี่ยนแปลงและไปกระตุ้นปฏิกิริยาระหว่าง Plasma protein และส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเม็ดไขมันดั้งเดิม (native MFGM) นอกจากนี้ปริมาณโปรตีน (protein load) ลดลงเมื่อให้ความร้อนแก่เนมสูงขึ้น และเป็นสาเหตุทำให้เกิดการดูดซับโดยตรงของ denatured  $\beta$ -Lactoglobulin และ  $\alpha$ -Lactalbumin ซึ่งไม่ทำปฏิกิริยากับ  $\kappa$ -CN ในระหว่างการโฮโมจีไนส์ที่บริเวณ O/W interface จึงมีขอบเขตของพื้นผิวซึ่งมีความสามารถในการดูดซับ เคซีนไมเซลล์ เพราะฉะนั้นจึงทำให้ปริมาณทั้งหมดของ proteins load ลดลงได้ นอกจากนี้การสลายตัวของเคซีนไมเซลล์ไปเป็นหน่วยที่เล็กกว่า (sub micelles) ได้แก่  $\alpha$ -CN,  $\beta$ -CN monomers เมื่อผ่านการโฮโมจีไนส์ด้วยความดันสูง อาจมีความเป็นไปได้ที่ทำให้เกิดการลดลงของจำนวนโปรตีนทั้งหมดด้วยการถูกดูดซับตรงบริเวณพื้นผิวของอนุภาคเม็ดไขมันนม

ดังนั้นจากการทดลองนี้จึงบ่งชี้ให้เห็นว่า การวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก มีลค์อะนาไลเซอร์ เมื่อทำให้อนุภาคเม็ดไขมันนมเกิดการเปลี่ยนแปลงก่อน เช่น นมผ่านการโฮโมจีไนส์ทั้งสองแบบ คือ Single-stage และ Two-stage มีผลกระทบต่อการศึกษาขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมจากคลื่นเสียงอัลตราโซนิก ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมกับปริมาณ

ไขมันนมในทิศทางตรงกันข้าม ถ้าหากมีการนำเครื่องมือดังกล่าวมาวิเคราะห์ตัวอย่างนมที่ผ่านการให้ความร้อนประมาณ 60 องศาเซลเซียส แล้วโฮโมจีไนส์ ให้ผลการวิเคราะห์ไขมันนมแสดงปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับนมดิบปกติ

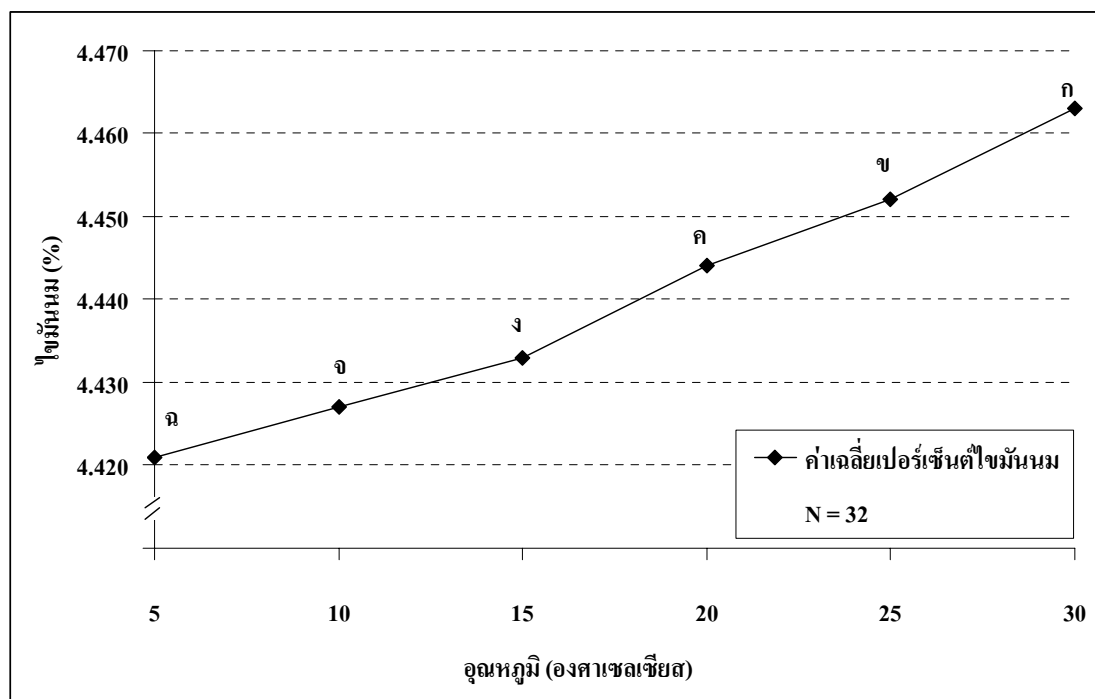
#### การทดลองที่ 4 อิทธิพลของอุณหภูมินมดิบต่อความผันแปรเปอร์เซ็นต์ไขมันนมและความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์ไขมันนม ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์

จากการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมินมดิบต่อความผันแปรเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม และโมเดลอัลตรา ทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ไขมันนมที่อุณหภูมิของนมดิบแตกต่างกันจำนวน 32 ตัวอย่าง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 15 พบว่าไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม ในตัวอย่างนมดิบที่ให้ความร้อนเพิ่มขึ้นเป็น 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียสตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยไขมันนมเพิ่มขึ้นจาก 4.421% เป็น 4.427, 4.433, 4.444, 4.452, และ 4.463 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยอุณหภูมิของนมดิบที่เพิ่มขึ้นทุก ๆ 5 องศาเซลเซียสมีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) สำหรับแนวโน้มความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันเพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.006, 0.006, 0.011, 0.008 และ 0.011 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หรือมีไขมันนมเพิ่มขึ้นประมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างนมดิบที่อุณหภูมิสูงขึ้นทุก 5 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 25 ส่วนเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลอัลตรา ให้ผลการวิเคราะห์ไขมันนมที่อุณหภูมินมดิบต่างไปโดยนมดิบที่มีอุณหภูมิ 5, 10 และ 15 องศาเซลเซียส ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) มีค่าเฉลี่ยไขมันนม เท่ากับ 4.453 4.445 และ 4.449 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนนมดิบที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมเท่ากับ 4.460 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่านมดิบที่มีอุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าไขมันนมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.476 และ 4.486 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 16 เมื่อพิจารณาแนวโน้มพบว่าไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลอัลตรา เมื่อนมดิบมีอุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันนมสูงขึ้นตามไปด้วยแต่ไม่เป็นไปในทิศทางเช่นเดียวกับโมเดลเอ็ม คือมีค่าไขมันสูงขึ้นเป็น -0.008, 0.004, 0.008, 0.016 และ 0.010 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 26

ตารางที่ 15 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไขมัน  $\pm$  SE ตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิแตกต่างกันเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม

อุณหภูมินมดิบ (องศาเซลเซียส)	N	ไขมัน (%)
5	32	4.421 $\pm$ 0.090 <sup>ก</sup>
10	32	4.427 $\pm$ 0.089 <sup>ข</sup>
15	32	4.433 $\pm$ 0.089 <sup>ค</sup>
20	32	4.444 $\pm$ 0.089 <sup>ก</sup>
25	32	4.452 $\pm$ 0.089 <sup>ข</sup>
30	32	4.463 $\pm$ 0.089 <sup>ก</sup>

กขคจฉ อักษรต่างกันภายในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกัน (P<0.05)



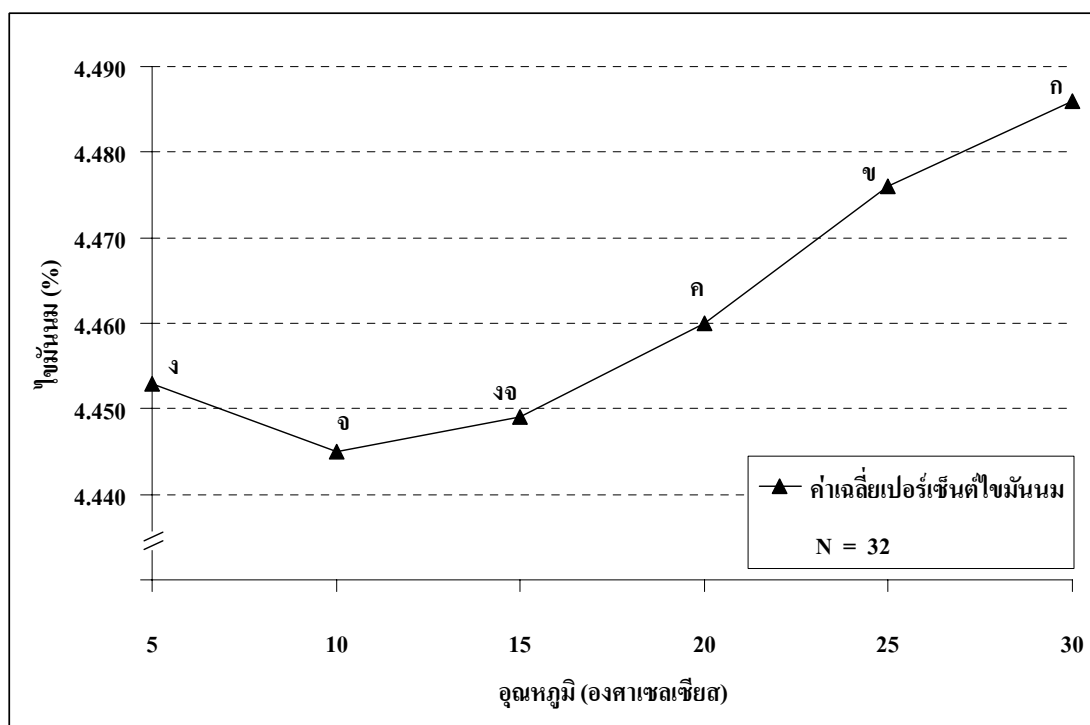
กขคจฉ อักษรต่างกันของค่าเฉลี่ยไขมันนมในเส้นกราฟเดียวกันแสดงความแตกต่างกัน (P<0.05)

ภาพที่ 25 การเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม เมื่ออุณหภูมิตัวอย่างนมดิบต่างกัน

ตารางที่ 16 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไขมัน  $\pm$  SE ตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิแตกต่างกันเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มัลติอะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา

อุณหภูมินมดิบ (องศาเซลเซียส)	N	ไขมัน (%)
5	32	4.453 $\pm$ 0.088 <sup>ก</sup>
10	32	4.445 $\pm$ 0.088 <sup>ข</sup>
15	32	4.449 $\pm$ 0.088 <sup>ข</sup>
20	32	4.460 $\pm$ 0.089 <sup>ค</sup>
25	32	4.476 $\pm$ 0.089 <sup>ค</sup>
30	32	4.486 $\pm$ 0.089 <sup>ค</sup>

กขคจ อักษรต่างกันภายในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกัน (P<0.05)



กขคจ อักษรต่างกันของค่าเฉลี่ยไขมันนมในเส้นกราฟเดียวกันแสดงความแตกต่างกัน (P<0.05)

ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มัลติอะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา เมื่ออุณหภูมิตัวอย่างนมดิบต่างกัน

อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้ หากพิจารณาถึงการวิเคราะห์ไขมันนมเมื่อนมดิบมีอุณหภูมิระหว่าง 15 – 30 องศาเซลเซียส ตามคำแนะนำของ Eon Trading (2001) และ Weber Scientific (2003) สำหรับเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม พบว่าอุณหภูมิในช่วงดังกล่าวมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่อ่านได้จริง (เมื่อมีช่วงของระดับไขมันนมที่วิเคราะห์อยู่ระหว่าง 3.76 – 7.00 เปอร์เซ็นต์) นั่นคือ ไขมันนมมีค่าสูงขึ้นตามอุณหภูมิของนมดิบที่สูงขึ้นตามลำดับ ส่วนเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา (มีช่วงของระดับไขมันนมที่วิเคราะห์อยู่ระหว่าง 3.80 – 7.04 เปอร์เซ็นต์) ให้ผลการวิเคราะห์ไปในทิศทางเดียวกับโมเดลเอ็ม เมื่อวิเคราะห์ไขมันนมที่อุณหภูมิของนมดิบสูงกว่า 15 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่อ่านได้มีค่าสูงขึ้น สำหรับการวิเคราะห์ไขมันนมจากตัวอย่างนมที่อุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส แนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมลดลงเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล

เนื่องจากยังไม่มีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการวิเคราะห์ไขมันนมจากตัวอย่างนมที่อุณหภูมิของนมดิบต่างกันด้วยวิธีอัลตราโซนิคมาก่อน สำหรับการทดลองในครั้งนี้ เมื่อใช้อุณหภูมินมดิบในช่วง 5 – 30 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าอุณหภูมิของนมดิบในช่วงดังกล่าวมีผลต่อการอ่านค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่ทุกอุณหภูมิ นอกจากนี้ Nova (2005) รายงานถึงเครื่องมือที่อาศัยคลื่นเสียงอัลตราโซนิคเรียกว่า แล็คโตสแกน (Lactoscan) สามารถวิเคราะห์หองค์ประกอบน้ำนมโดยใช้ตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิตั้งแต่ 5 – 40 องศาเซลเซียส และมีช่วงของการวิเคราะห์ปริมาณไขมันนมอยู่ระหว่าง 0 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาความเที่ยงตรงของวิธีอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ในการวิเคราะห์ไขมันนมจากนมดิบที่มีอุณหภูมิต่างกัน โดยใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราซ้ำ ( $S_r$ ), อัตราซ้ำ (r-value) และ ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร ( $RSD_r$ ) ซึ่งใช้เป็นค่าพารามิเตอร์ทางสถิติวัดความเที่ยงตรงของเครื่องมือทั้งสองโมเดลดังกล่าว จากผลการทดลองที่ผ่านมาปรากฏว่าแนวโน้มของเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็มมีความเที่ยงตรงดีกว่าโมเดลอัลตรา ดังนั้นจึงสามารถนำผลจากการทดลองดังกล่าวมาอธิบายถึงอิทธิพลของอุณหภูมินมดิบที่เปลี่ยนแปลงต่อความผันแปรของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่อ่านได้จริงจากวิธีอัลตราโซนิค ปรากฏว่าค่า  $S_r$ , r-value และ  $RSD_r$  สำหรับเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 17 นั้นหมายถึงไม่พบความแตกต่างจากความเที่ยงตรงของเครื่องมือนี้ แม้ทำการวิเคราะห์ไขมันนมจากนมดิบที่มีอุณหภูมิต่างกัน สำหรับเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา เมื่อพิจารณาพบว่าค่า  $S_r$ , r-value และ  $RSD_r$  ของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยนมดิบที่มี

อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีค่าต่ำที่สุด คือเท่ากับ 0.0062, 0.0175 และ 0.1323 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการใช้นมดิบมีอุณหภูมิที่ 5, 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าความเที่ยงตรงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 18

ตารางที่ 17 ค่า Repeatability standard deviation ( $S_r$ ), repeatability value (r-value) and repeatability relative standard deviation ( $RSD_r$ ) ของไขมันในตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิต่างกัน วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม

อุณหภูมินมดิบ (องศาเซลเซียส)		พารามิเตอร์ของความเที่ยงตรง		
		$S_r(\%)^1$	r-value( $\%)^1$	$RSD_r(\%)^1$
5	32	0.0075 ± 0.0015	0.0213 ± 0.0042	0.1733 ± 0.0347
10	32	0.0070 ± 0.0009	0.0200 ± 0.0025	0.1611 ± 0.0206
15	32	0.0062 ± 0.0010	0.0175 ± 0.0029	0.1415 ± 0.0242
20	32	0.0064 ± 0.0009	0.0181 ± 0.0024	0.1514 ± 0.0220
25	32	0.0066 ± 0.0019	0.0188 ± 0.0054	0.1472 ± 0.0415
30	32	0.0058 ± 0.0010	0.0163 ± 0.0029	0.1326 ± 0.0242

<sup>1</sup> ± SE

ตารางที่ 18 ค่า Repeatability standard deviation ( $S_r$ ), repeatability value (r-value) and repeatability relative standard deviation ( $RSD_r$ ) ของไขมันในตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิต่างกัน วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิคัลอะนาไลเซอร์ โมเดลอัลตรา

พารามิเตอร์ของความเที่ยงตรง				
อุณหภูมินมดิบ (องศาเซลเซียส)	N	พารามิเตอร์ของความเที่ยงตรง		
		$S_r(\%)^1$	r-value( $\%)^1$	$RSD_r(\%)^1$
5	32	$0.0088 \pm 0.0024^{ny}$	$0.0250 \pm 0.0069^{ny}$	$0.1938 \pm 0.0516^{ny}$
10	32	$0.0062 \pm 0.0015^u$	$0.0175 \pm 0.0044^u$	$0.1323 \pm 0.0299^u$
15	32	$0.0084 \pm 0.0011^{ny}$	$0.0238 \pm 0.0032^{ny}$	$0.1901 \pm 0.0245^{ny}$
20	32	$0.0086 \pm 0.0013^{ny}$	$0.0244 \pm 0.0038^{ny}$	$0.1981 \pm 0.0328^{ny}$
25	32	$0.0102 \pm 0.0017^{ny}$	$0.0288 \pm 0.0049^{ny}$	$0.2278 \pm 0.0414^{ny}$
30	32	$0.0123 \pm 0.0015^n$	$0.0350 \pm 0.0041^n$	$0.2818 \pm 0.0326^n$

<sup>1</sup>  $\pm$  SE

<sup>ny</sup> อักษรต่างกันภายในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกัน ( $P < 0.05$ )

วรรณ (2531) รายงานว่า ความถ่วงจำเพาะ ความหนาแน่น ความจุความร้อน (heat capacity, Cp) หรือความร้อนจำเพาะ (specific heat) เป็นคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนมที่โรงงานแปรรูปนมต้องคำนึงถึง เพื่อการออกแบบเครื่องมือให้เหมาะสมกับวัตถุดิบที่ใช้ เนื่องจากการวัดความหนาแน่นมีค่าเท่ากับมวล (mass) ต่อหนึ่งหน่วยปริมาตร (volumetric) แสดงด้วยหน่วยกิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ( $Kg\ m^{-3}$ ) หรือ กรัมต่อมิลลิลิตร ( $g\ ml^{-1}$ ) ณ อุณหภูมิหนึ่ง ดังนั้นความหนาแน่นจึงขึ้นอยู่กับปริมาณขององค์ประกอบของน้ำนม ความเข้มข้นโดยเฉพาะของส่วนประกอบนั้นและยังขึ้นกับอุณหภูมิตัวอย่างนมด้วย ความหนาแน่นของนมเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิของนมลดลง เช่นนมดิบที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีค่าความหนาแน่นเฉลี่ย 1030 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร โดยปกติมีค่าผันแปรระหว่าง 1027 ถึง 1033 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (Goff and Hill, 1993) เช่นเดียวกับความจุความร้อนสามารถอธิบายได้ถึงปริมาณความร้อนที่ทำให้อุณหภูมิของสารจำนวนหนึ่งหน่วยมวลเปลี่ยนไปหนึ่งช่วงของอุณหภูมิ ส่วนค่าความร้อนจำเพาะ คือ อัตราส่วนระหว่างปริมาณความร้อนที่ทำให้สารที่มีมวลจำนวนหนึ่งมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจำนวนหนึ่งองศา ต่อปริมาณ

ความร้อนที่ทำให้น้ำมวลเท่ากับสารมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นหนึ่งองศา นมดิบที่มีไขมันนมเท่ากับ 3.5 - 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความร้อนจำเพาะเท่ากับ 0.93 แคลอรีต่อกรัมต่อองศาเซลเซียส ( $\text{calg}^{-1}\text{C}^{-1}$ ) (เมื่อน้ำมีค่าความร้อนจำเพาะเท่ากับ  $1 \text{ calg}^{-1}\text{C}^{-1}$ ) โดยค่าความร้อนจำเพาะของสารยังขึ้นอยู่กับปริมาณ ความชื้น ความดัน อุณหภูมิและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ เช่น อุณหภูมิของส่วนที่เป็นของแข็ง เพิ่มขึ้นค่าความร้อนจำเพาะลดลง เช่นเดียวกับค่าความร้อนจำเพาะลดลงเมื่อผลิตภัณฑ์นมมีเปอร์เซ็นต์ไขมันเพิ่มขึ้น (Harper and Hall, 1976) นอกจากนี้ Eckels *et al.* (1951) และ Harper and Hall (1976) รายงานถึงค่าความจุความร้อนของนมดิบซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร คือ  $C_p = Q/m(t_2 - t_1)$  เมื่อปริมาณความร้อน, Q (มีหน่วยเป็น Btu (British thermal unit) ในระบบ f-p-h, foot-pound-hour หรือแคลอรี (calories) ในระบบ centigrade-gram-second ที่ทำให้มวล (m) ซึ่งมีหน่วยเป็นกรัมมีอุณหภูมิเปลี่ยนแปลง ( $t_2 - t_1$ ) องศาเซลเซียส

จากการทดลองนี้เมื่อพิจารณาค่าความหนาแน่น ความจุความร้อน และความร้อนจำเพาะของนมดิบที่นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ พบว่าค่าดังกล่าวมีประโยชน์ในการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิบนนมดิบ สำหรับค่าความหนาแน่น (density) วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โดยนมดิบมีปริมาตรที่ผ่านเข้าสู่เครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็มเท่ากับ 9.5 มิลลิลิตร และโมเดลอัลตรา 4.0 มิลลิลิตร ดังนั้นเพื่ออธิบายความเที่ยงตรงของเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดลได้ เมื่อแทนค่าด้วยสูตรความหนาแน่นเท่ากับมวล ต่อปริมาตรสามารถหามวลของนมดิบได้ และประเมินค่าปริมาณความร้อน ด้วยการแทนค่าจากสูตรได้ดังนี้

$$C_p = Q/m (t_2 - t_1) \text{ โดยที่ } C_p \text{ มีค่าเท่ากับ } 0.93 \text{ calg}^{-1}\text{C}^{-1}$$

เมื่อ Q คือปริมาณความร้อนที่ต้องการทราบ มีหน่วยเป็น แคลอรี

m คือมวลของนมดิบ มีหน่วยเป็น กรัม

$(t_2 - t_1)$  คืออุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส

ผลของค่าปริมาณความร้อนที่ส่งผ่านไปยังตัวอย่างนมดิบ แสดงในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 อุณหภูมิของนมดิบเริ่มต้นและนมดิบภายหลังจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็มและโมเดลอัลตรา ที่แปลงเป็นค่าปริมาณความร้อน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)			ค่าปริมาณความร้อน (cal)* ± SD	
นมดิบ เริ่มต้น	นมหลังผ่านอัลตราโซนิก โมเดลเอ็ม	นมหลังผ่านอัลตราโซนิก โมเดลอัลตรา	โมเดลเอ็ม	โมเดลอัลตรา
5	34	32	262.53 ± .267	103.00 ± .131
10	35	33	226.35 ± .227	87.74 ± .108
15	36	34	190.16 ± .185	72.49 ± .089
20	38	36	163.01 ± .155	61.04 ± .073
25	39	37	126.80 ± .122	45.79 ± .054
30	40	38	90.58 ± .087	30.53 ± .037

n = 384

หมายเหตุ

\* คำนวณตามสูตร  $C_p = Q/m (t_2 - t_1)$

จากตารางที่ 19 เมื่อพิจารณาเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล ปรากฏว่า อุณหภูมิเริ่มต้นของนมดิบเท่ากับ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียสตามลำดับ เมื่อผ่านการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม อุณหภูมิของนมดิบภายหลังเพิ่มขึ้น เป็น 34, 35, 36, 38, 39 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ ส่วนโมเดลอัลตรา มีอุณหภูมิของนมดิบ เพิ่มขึ้นภายหลังเท่ากับ 32, 33, 34, 36, 37 และ 38 องศาเซลเซียสตามลำดับ พบว่าแนวโน้มของ อุณหภูมิของนมดิบภายหลังผ่านเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 1.2 องศาเซลเซียส ต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมินมดิบเริ่มต้นทุก ๆ 5 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เครื่อง อัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลอัลตรา มีค่าความแตกต่างของอุณหภูมินมดิบภายหลังน้อยกว่าโมเดลเอ็มประมาณ 2 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณ ความร้อนที่เกิดขึ้นภายในเครื่องมือดังกล่าวทั้งสองโมเดลจากการคำนวณ พบว่าเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็มมีค่าปริมาณความร้อนสูงกว่าโมเดลอัลตราเปรียบเทียบกับกันดังนี้ 263: 103, 226: 88, 190: 72, 163: 61, 127: 46 และ 91: 31 แคลอรี ตามลำดับ จึงมีความเป็นไปได้ว่าอุณหภูมิ ของดิบที่ต่างกันทำให้ค่าปริมาณความร้อนที่เกิดขึ้นต่างกัน ทั้งนี้อาจมีผลกระทบต่อความเที่ยงตรง

ของเครื่องอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล เนื่องจากกลไกทางฟิสิกส์ของคลื่นเสียง อัลตราโซนิคที่ตกกระทบตัวกลาง ประกอบด้วยการกระจาย (scattering) และการดูดซับ (absorption) ด้วยเหตุนี้พลังงานเสียงจึงเปลี่ยนไปเป็นความร้อน เป็นสาเหตุให้ความหนืดภายใน ตัวอย่างนมสูญเสียไป จึงส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายใน โดยเฉพาะไขมันนม ค่าความเร็วของคลื่นอัลตราโซนิคและอุณหภูมิที่เปลี่ยนไปในตัวอย่างมีความสัมพันธ์กันสูงมากและสามารถใช้เพื่อประมวลผลความเที่ยงตรงได้ (Weber Scientific, 2003) ในทำนองเดียวกัน Dukhin *et al.* (2003) รายงานว่า ค่าความเร็วของคลื่นอัลตราโซนิค มีความไวต่อองค์ประกอบทางเคมีในอาหารมาก และมีความไวต่ออุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงในอาหารมากเช่นเดียวกัน นอกจากนี้การศึกษาของ Benedito (2000) พบว่าการตรวจสอบเนื้อสัมผัสของเนยแข็งเพื่อหาระยะเวลาการบ่มที่ 36, 152, และ 321 วัน ทำให้ตัวอย่างเนยแข็งที่มีอุณหภูมิต่างกันว่า 5, 12, 17, 20, และ 25 องศาเซลเซียส มีความเร็วของอัลตราโซนิคที่ใช้วิเคราะห์ลดลงเมื่ออุณหภูมิของเนยแข็งสูงขึ้นตามลำดับ

จากการทดลองนี้จึงอาจมีความเป็นไปได้ที่ปรากฏว่าเครื่องอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็มมีความเที่ยงตรงที่มีแนวโน้มดีกว่าโมเดลอัลตรา อันเนื่องมาจากสัดส่วนของปริมาณ ความร้อนที่เกิดขึ้นภายในเครื่องมือมีมากกว่า ค่าความเร็วของคลื่นเสียงอัลตราโซนิคที่ผ่านตัวอย่าง นมดิบอาจมีการผันแปรไปตามอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปได้ และส่งผลต่อการอ่านค่าปริมาณไขมัน นม

เมื่อพิจารณาความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์ ทั้ง สองโมเดล เมื่ออุณหภูมิของตัวอย่างนมดิบเริ่มต้นสูงขึ้นมีโอกาที่ปรากฏการอ่านปริมาณไขมันนม มีค่าเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถอธิบายถึงอุณหภูมิที่มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ไขมัน นมให้ความเที่ยงตรงดีที่สุด ดังนั้นจึงพิจารณาค่าความแม่นยำ (MD) ควบคู่ไปด้วย จากการทดลองที่ 1.2 วิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล (ตัวอย่างนมดิบ สำหรับการทดสอบมีอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส) พบว่าผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตรา โซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์ สามารถทำนายผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีมอจอนเนียร์ได้ประมาณ 99 เปอร์เซ็นต์ จากสมการถดถอยเชิงเส้น  $Y = 0.9937X + 0.1646$  สำหรับโมเดลเอ็ม และ  $Y = 0.9874X + 0.1939$  สำหรับโมเดลอัลตรา เมื่อแทนค่า X คือ เปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วย วิธีอัลตราโซนิค มีลค์อะนาไลเซอร์ ณ อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สามารถให้ค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมของวิธีมอจอนเนียร์ อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ไขมันนม ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมอจอนเนียร์มาจากการแทนค่าในสมการถดถอยเชิงเส้น จึงมีค่ามากกว่าไขมันนม

ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิค มีค้อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล ค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ไขมันจากวิธีการทั้งสอง ใช้เพื่อประเมินค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิค มีค้อะนาไลเซอร์ที่อุณหภูมิของนมดิบต่างกัน แสดงในตารางที่ 20 และ ตารางที่ 21

ตารางที่ 20 ค่าเฉลี่ยความแตกต่าง (MD)  $\pm$  SE ของเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิแตกต่างกันที่แทนค่าในสมการ  $Y = 0.9937X + 0.1646$  สำหรับ โมเดลเอ็ม

อุณหภูมินมดิบ (องศาเซลเซียส)	N	MD
5	32	0.1368 $\pm$ 0.0006 <sup>ก</sup>
10	32	0.1367 $\pm$ 0.0006 <sup>ข</sup>
15	32	0.1367 $\pm$ 0.0006 <sup>ข</sup>
20	32	0.1366 $\pm$ 0.0006 <sup>ก</sup>
25	32	0.1365 $\pm$ 0.0006 <sup>ง</sup>
30	32	0.1364 $\pm$ 0.0006 <sup>ข</sup>

<sup>กขงจ</sup> อักษรต่างกันภายในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกัน(P<0.05)

ตารางที่ 21 ค่าเฉลี่ยความแตกต่าง (MD)  $\pm$  SE ของเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่างนมดิบที่มีอุณหภูมิแตกต่างกันที่แทนค่าในสมการ  $Y = 0.9874X + 0.1939$  สำหรับ โมเดลอัลตรา

อุณหภูมินมดิบ (องศาเซลเซียส)	N	MD
5	32	0.1377 $\pm$ 0.0011 <sup>ขก</sup>
10	32	0.1379 $\pm$ 0.0011 <sup>ก</sup>
15	32	0.1378 $\pm$ 0.0011 <sup>กข</sup>
20	32	0.1376 $\pm$ 0.0011 <sup>ก</sup>
25	32	0.1375 $\pm$ 0.0011 <sup>ง</sup>
30	32	0.1374 $\pm$ 0.0011 <sup>ข</sup>

<sup>กขงจ</sup> อักษรต่างกันภายในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกัน(P<0.05)

จากตารางที่ 20 เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในมดที่ 15 องศาเซลเซียส (ใช้เป็นค่าฐานเพื่อเปรียบเทียบความแม่นยำกับอุณหภูมิอื่น) ปรากฏว่า ค่า MD ณ อุณหภูมิดังกล่าวสำหรับเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1367 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P>0.05$ ) กับ ค่า MD ที่อุณหภูมิในมด 10 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1367 เช่นเดียวกัน แต่ช่วงอุณหภูมิดังกล่าวมีความแตกต่างทางสถิติ ( $P<0.05$ ) กับค่า MD ณ อุณหภูมิในมดที่ 5, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1368, 0.1366, 0.1365 และ 0.1364 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เมื่อประเมินความแม่นยำของการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือดังกล่าว พบว่า ความแม่นยำของการวิเคราะห์ไขมันจากตัวอย่างนมดที่มีอุณหภูมิเริ่มต้น 10 และ 15 องศาเซลเซียสไม่มีความต่างกัน ดังนั้นเพื่อความสะดวกของผู้ปฏิบัติงานจึงมีข้อเสนอแนะสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพนมสามารถปฏิบัติงานอย่างรวดเร็ว และใช้ตัวอย่างนมดในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 10 ถึง 15 องศาเซลเซียสได้ โดยมีความแม่นยำของการวิเคราะห์ไขมันนมไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลอัลตรา (ตารางที่ 21) เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในมดที่ 15 องศาเซลเซียส ปรากฏว่า ค่า MD มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1378 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P>0.05$ ) กับ ค่า MD ณ อุณหภูมิในมดที่ 5 และ 10 องศาเซลเซียส ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1377 และ 0.1379 ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P<0.05$ ) กับค่า MD ณ อุณหภูมิที่ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1376, 0.1375 และ 0.1374 ตามลำดับ จึงมีข้อเสนอแนะสำหรับการใช้ตัวอย่างนมดวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือดังกล่าว จึงสามารถใช้ตัวอย่างนมดในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 5 ถึง 15 องศาเซลเซียส เพราะความแม่นยำของการวิเคราะห์ไขมันนมไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้เมื่อพิจารณาที่ช่วงอุณหภูมิดังกล่าวยังมีความสะดวกต่อผู้ปฏิบัติงานสามารถเตรียมตัวอย่างนมเพื่อการวิเคราะห์ไขมันนมได้เร็วขึ้นโดยไม่จำเป็นต้องอุ่นตัวอย่างนมก่อนสำหรับตัวอย่างนมดที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 15 องศาเซลเซียส สามารถวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดลได้เช่นเดียวกัน แต่ทำให้ผลของค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่อ่านได้นั้นสูงกว่าความเป็นจริง และทำให้ความแม่นยำเปลี่ยนแปลง

## สรุป

1. ไหม้นนมหวีเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็มและโมเดลอัลตรา ก่อนปรับมาตรฐานเครื่องมีค่าเฉลี่ยมากกว่าวิธีมอจอนเนียร์ ส่วนภายหลังปรับมาตรฐานเครื่องมือทั้งสอง ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไขมันนมน้อยกว่าวิธีมอจอนเนียร์เท่ากับ 0.142 และ 0.148 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

2. ค่าพารามิเตอร์ทางสถิติของความเที่ยงตรงจากการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม และโมเดลอัลตร้าก่อนและหลังปรับค่ามาตรฐาน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับวิธีมอจอนเนียร์

3. ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม, โมเดลอัลตร้ากับวิธีมอจอนเนียร์ มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน สามารถใช้สมการ  $Y = 0.9937X + 0.1646$  และ  $Y = 0.9874X + 0.1939$  เมื่อ X คือ ค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมวิเคราะห์ด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ตามลำดับ และ Y คือ ค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมวิเคราะห์ด้วยวิธีมอจอนเนียร์ สมการทั้งสองมีความแม่นยำในการคำนวณถึง 99 % สามารถใช้ในการตรวจสอบคุณภาพนมดิบในห้องปฏิบัติการด้านองค์ประกอบไขมันนม จากตัวอย่างนมดิบที่สุ่มเก็บจากช่องบรรจุนมบรรจุนมหรือถังรวมนม เพื่อคิดราคานมในการคำนวณเทียบกลับวิธีอ้างอิงได้

4. ระยะเวลาการใช้งานและจำนวนตัวอย่างนมดิบที่วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่เพิ่มขึ้นมีผลกระทบต่อกรวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ โมเดลเอ็ม และโมเดลอัลตร้า สามารถกำหนดระยะเวลาการปรับมาตรฐานของเครื่องโมเดลเอ็มในครั้งต่อไปเมื่อผ่านการใช้งานทุก ๆ 90 วัน หรือใช้จำนวนตัวอย่างนมดิบวิเคราะห์ประมาณ 300 ตัวอย่าง ส่วนเครื่องโมเดลอัลตร้า ควรปรับมาตรฐานภายในระยะเวลา 60 วัน สำหรับศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบควรปรับมาตรฐานเครื่องมือดังกล่าวด้วยวิธีอ้างอิงทุก ๆ 30 วัน

5. การวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล ทำให้ปริมาณไขมันนมและขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมจากตัวอย่างนมดิบที่มีอยู่ตามธรรมชาติมีความสัมพันธ์เป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีแนวโน้มของผลการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก มิลค์อะนาไลเซอร์มีเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น เมื่อขนาดอนุภาคเม็ดไขมันนมมีค่าเฉลี่ยมากขึ้น

6. การไฮโมจิไนส์แบบ Single-stage และ Two-stage ด้วยความดันรวมตั้งแต่ 100, 150, 200, 250 และ 300 bar ทำให้อุณหภูมิของไขมันนมมีขนาดเล็กลง สำหรับนมที่ผ่านการไฮโมจิไนส์แบบ Two-stage ที่ระดับความดันรวมสูงขึ้นส่งผลต่อการวิเคราะห์ไขมันนมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มิลค์ อะนาไลเซอร์โมเดลเอ็ม โดยมีผลการอ่านค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันนมจากเครื่องมือดังกล่าวเพิ่มขึ้น มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับนมที่ไฮโมจิไนส์แบบ Single-stage ที่ระดับความดันรวมเดียวกัน และ นมดิบปกติตามลำดับ

7. อุณหภูมินมดิบเริ่มต้น 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง อัลตราโซนิกมิลค์อะนาไลเซอร์ทั้งสองโมเดล ทำให้การอ่านเปอร์เซ็นต์ไขมันเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ นมที่สูงขึ้น โดยมีค่าพารามิเตอร์ของความเที่ยงตรงไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์ในช่วงอุณหภูมิ ดังกล่าว สำหรับช่วงอุณหภูมิของนมดิบระหว่าง 5 - 15 องศาเซลเซียสมีความเหมาะสมสำหรับ เครื่องโมเดลอัลตรา ส่วนเครื่องโมเดลเอ็มควรใช้นมดิบที่มีอุณหภูมิระหว่าง 10 - 15 องศาเซลเซียส เพราะช่วงของอุณหภูมิดังกล่าวทำให้ความแม่นยำในการวิเคราะห์ไขมันนมไม่เปลี่ยนแปลง

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- ก่องกัญจน์ ภัทรากาญจน์ และ ธนกาญจน์ ภัทรากาญจน์. 2531. ไฟฟ้า เสียง แสง. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, กรุงเทพฯ.
- จรัญ จันทลักขณา. 2540. สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 7. บริษัทสำนักพิมพ์ ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, กรุงเทพฯ.
- จิตชนก เจริญเชาว์. 2541. การวิเคราะห์การถดถอยสำหรับการวิจัยทางการศึกษา. โครงการผลิตตำรา, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, ปัตตานี.
- ชุมนุมสหกรณ์โคนมแห่งประเทศไทย. 2542. วิธีการประเมินคุณภาพนมดิบปี 2000. 20 หน้า.
- ณัฐมา เฉลิมแสน. 2547. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความแม่นยำในการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบน้ำนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นรินทร์ ทองศิริ. 2531. เทคโนโลยีอาหารนม. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์ดาวคอมพิวกราฟิค, เชียงใหม่.
- ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. 2524. หลักการแปรรูปนม. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วรรณมา ตั้งเจริญชัย. 2538. ปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพนมและผลิตภัณฑ์นม. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- วรรณมา ตั้งเจริญชัย และวิบูลย์ศักดิ์ กาวิลละ. 2531. นมและผลิตภัณฑ์นม. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ.เอส. พรินติ้งเฮาส์ โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

วิพิชญ์ ไชยศรีสงคราม. 2541. การตรวจคุณภาพน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม. กองสัตวแพทย์  
สาธารณสุข กรมปศุสัตว์, กรุงเทพฯ.

สำนักเศรษฐกิจการเกษตร. 2548. สถานการณ์ปศุสัตว์ปี 2547 และแนวโน้มปี 2548. 70 หน้า.

อนันตสิน เตชะกำพูน พิธิยัฐ รัตนวราภักษ์ และพรชัย พัชรัตนตระกุล. 2541. **ฟิสิกส์ 1.**  
สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์  
มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Andersen, T., N. Brems, M.M. Borglum, S. Kold-Christensen, E. Hansen, J.H. Jorgensen and L.  
Nygaard. 1993. Modern laboratory practice 1: Chemical analysis, pp. 381-416. *In* R.K.  
Robinson, ed. **Modern Dairy Technology. Vol. 2: Advances in Milk Products.**  
Elsevier Science Publishers Ltd., London.

Bamberger, J.A., L.J. Bond and M.S. Greenwood. 1999. Ultrasonic measurements for on-line real  
- time food process monitoring. Sixth Conference on Food Engineering. Available  
Source: [http://www.tanks.org/ttgdoc/PNNL- SA 32024.pdf](http://www.tanks.org/ttgdoc/PNNL-SA32024.pdf). October 16, 2003.

Benedito, J., J. Carcel, G. Clemente and A. Mulet. 2000. Cheese maturity assessment using  
ultrasonics. **J. Dairy Sci.** 83: 248-254.

Bradley, Jr, R.L. 2000. Dairy products, pp. 1-33. *In* K. Helrich, ed. **AOAC Official Methods of  
Analysis.** 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Virginia.

Bradley, Jr, R.L., E. Arnold, Jr., D.M. Barbano, R.G. Semerad, D.E. Smith and B.K. Vines.  
1992. Chemical and physical methods, pp. 433-531. *In* R.T. Marshall, ed. **Standard  
Methods for the Examination of Dairy Products.** 16th ed. The American Public Health  
Association, Washington, DC.

- Buckin, V., B. O'Driscoll, C. Smyth, A.C. Alting and R.W. Visschers. 2003. Ultrasonic spectroscopy for material analysis. Recent advances, pp. 20-25. *In* **Ultrasonic Spectroscopy**. Spectroscopy Europe, Dublin, Ireland.
- Cano-ruiz, M.E. and R.L. Richter. 1997. Effect of Homogenization Pressure on the Milk Fat Globule Membrane Proteins. **J. Dairy Sci.** 80: 2732-2739.
- Cartwright, D. 1998. Off-the-shelf ultrasound instrumentation for the food industry, pp. 17-29. *In* M.J.W. Povey and T. J. Mason, eds. **Ultrasound in Food Processing**. Blackie Academic and Professional, UK.
- Christen, G.L. 1992. Analyses, pp. 83-155. *In* Y.H. Hui, ed. **Dairy Science and Technology Handbook 1. Principle and Properties**. VCH, New York.
- Christie, W.W. 1994. Composition and structure of milk lipids, pp 1-28 *In* P.F. Fox, ed. **Advanced Dairy Chemistry Volume 2 : Lipids**. 2nd ed. Chapman and Hall, London.
- Cody, R.P. and J.K. Smith. 1997. **Applied Statistics and the SAS Programming Language**. Prentice Hall, New Jersey.
- D'Amico Jr, D.J., T.M. Silk, G. Hendricks and M. Guo. 2003. Effect of ultrasound treatment on the natural flora and microstructure of milk. **2003 IFT Annual Meeting-Chicago**. Available Source: [http://www.ift.com/ift/2003/techprogram/Paper\\_18410.htm](http://www.ift.com/ift/2003/techprogram/Paper_18410.htm), October 10, 2003.
- Dukhin, A.S. and P. J. Goetz. 2003. Ultrasound for characterizing liquid based food products. 1. Acoustic Spectroscopy. Dispersion Technology, Inc. Available Source: [http://info @ dispersion.com](http://info@dispersion.com). October 10, 2003.

- Eckles, C. H., W. B. Combs and H. Macy. 1973. **Milk and Milk Products**, 4th ed. McGraw-Hill Inc., New York.
- Elvira, L., L. Sampedro, J. Matesanz, Y. Gomez-Ullate, P. Resa, J.R. Iglesias, F.J.Echevarria and F. M. de Espinosa. 2005. Non-invasive and non-destructive ultrasonic technique for the detection of microbial contamination in packed UHT milk. **Food Res. Int.** 38: 631:638.
- Eon Trading. 2001. **Manufacturer of Ekomilk ultrasonic milk analyzers**. Bultech.Ltd., Bulgaria. Available Source: <http://www.eonbg.com>, November 5, 2003.
- Ertugay, M.F., S. Mustafa and S. Memnune. 2004. Effect of ultrasound treatment on milk homogenisation and particle size distribution of Fat. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.** 28: 303-308.
- Goff, H.D. 1995. Dairy Science and Technology Education. University of Guelph, Canada. Available Source: <http://foodsci.aps.uoguelph.ca/dairy/homogenization.html>, May 10, 2004.
- Goff, H.D. and A.R. Hill. 1993. Chemistry and Physics, pp. 49-51. In Y.H. Hui, ed. **Dairy Science and Technology Handbook 1. Principle and Properties**. VCH, New York.
- Grappin, R. 1987. Definition and evaluation of the overall accuracy of indirect methods of milk analysis-application to calibration procedure and quality control in dairy laboratory, pp 3-11. In IDF. 1987. Monograph on rapid indirect methods for measurement of the major components of milk. **Bulletin of the International Dairy Federation**. No. 208/1987. Brussels.
- Gunasekaran, S. and K. Ding. 1999. Three-dimensional characteristic of fat globules in cheddar cheese. **J. Dairy Sci.** 82: 1890-1896.

- Harding, F. 1995. Compositional quality, pp. 75-96. *In* F. Harding, ed. **Milk Quality**. Chapman and Hall, Glasgow.
- Harper, W.J. and C.W. Hall. 1976. **Dairy Technology and Engineering**. AVI Publishing Co., Connecticut.
- Hayes, M.G. and A.L. Kelly. 2003. High pressure homogenisation of raw whole bovine milk (a) effects on fat globule size and other properties. . **J. Dairy Res.** 70: 297-305.
- Helrich, K. 1990. **Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15th ed. AOAC, Inc., Virginia.
- Hood, R.L. 1981. Distribution of milk fat globules in cows' milk high in linoleic acid. **J. Dairy Sci.** 64: 19-24.
- Huppertz, T., P.F. Fox and A.L. Kelly. 2003. High pressure-induced changes in the creaming properties of bovine milk. **Innovative Food Sci. and Emerging Tech.** 4: 349-359.
- Irudayaraj, J. and B.K. Cho. 2003. Ultrasound measurement of food composition. The Pennsylvania State University. Available Source: [http://www.ift.confex.com/ift/2000/techprogram/Paper\\_3653.htm](http://www.ift.confex.com/ift/2000/techprogram/Paper_3653.htm), October10, 2003.
- Lynch, J.M. and D.M. Barbano. 1996. Comparison of Babcock and ether extraction methods for determination of fat content of cream: Collaborative study. **J. AOAC Int.** 79: 907-916.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and J.R. Fleming . 1997. Modification of Babcock method to eliminate fat testing bias between Babcock and extraction methods (Modification of AOAC Official Method 989.04 and 995.18): Collaborative study. **J. AOAC Int.** 80: 845 –859.

- Ma, Y. and D.M. Barbano. 2000. Gravity separation of raw bovine milk: Fat globule size distribution and fat content of milk fractions. **J. Dairy Sci.** 83: 1719-1727.
- Madsen, E.L., G.R. Frank and F. Dong. 1998. Liquid or solid ultrasonically tissue-mimicking materials with very low scatter. **Ultrasound in Med. & Biol.** 24(4): 535-542.
- Marijana, C. 1994. **Concentrated and Dried Dairy Products.** VCH Publisher, Inc., New York.
- Marshall, R.T and J.T. Peeler. 1992. Standard methods, pp. 1-18. *In* R.T. Marshall, ed. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products.** 16th ed. The American Public Health Association, Washington, DC.
- McClements, D.J. 1995. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. **Trends Food Sci. Tech.** 6: 293-299.
- Michalski, M.C., F. Michel., D. Sainmont and V. Briard. 2001. Apparent  $\zeta$ -potential as a tool to assess mechanical damages to the milk fat globule membrane. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.** 23: 23-30.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and C. Geneste. 2002. Appearance of submicronic particles in the milk fat globule size distribution upon mechanical treatments. **INRA, EDP. Sci.** 82: 193-208.
- \_\_\_\_\_, O. Michel., V. Briard., N. Leconte and C. Lopez. 2004. Native fat globules of different sizes selected from raw milk: thermal and structural behavior. **Chemistry and Physics of Lipids.** 132: 247-261.
- Mistry, D.H., E.J. Depeters and J.F. Medrano. 2002. Comparative composition of total and sn-2 fatty acids in bovine and ovine milk fat. **INRA, EDP. Sci.** 82: 225-259.

- Mizrach, A., N. Galili, S. Gan-mor, U. Flitsanov and I. Prigozin. 1996. Model of ultrasonic parameter to assess avocado propertie and shelf life. **J. Agr. Eng. Res.** 65:261-267: Abstract No.458-0086-94. Available Source: [http:// www.agri.gov.il/Abstracts/Mizrach96a.html](http://www.agri.gov.il/Abstracts/Mizrach96a.html) , October 12, 2003.
- Mulet, A., J. A. Carcel, J. Benedito and N. Sanjuan. 2002. Applications of low intensity ultrasonics in the dairy industry, pp.763-783. *In* J. Welti-chanes, G.V. Barbora-Canovas and J.M. Aguilera, eds. **Food Preservation Technology Series Engineering and Food for the 21<sup>st</sup> Century**. CRC, Spain.
- Nassar, G., B. Nongaillard and Y. Noel. 2004. Study by ultrasound of the impact of technological parameters changes in the milk gelation process. **J. Food Eng.** 63: 229-236.
- Nova, Z. 2005. Ultrasonic Portable Milk Analysers Lactoscan. Available Source: <http://www.milk-analyzer.com>, December 20, 2005.
- Povey, M.J.W. 1998. Rapid determination of food material properties, pp. 30-65. *In* M.J.W. Povey and T. J. Mason,eds. **Ultrasound in Food Processing**. Blackie Academic and Professional, London.
- Richardson, G.H. 1990. Dairy products, pp. 802-852. *In* K. Helrich, ed. **Official Methods of Analysis**.15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Virginia.
- Rosenthal, I. 1991. **Milk and Dairy Products: Properties and Processing**. VCH Publisher, Inc., New York.
- Sahai, D. and D.S. Jackson. 1996. Structural and chemical properties of native corn starch granules. **Starch/Starke**. 48: 249-255.

- Singh, A.P., D.J. McClements and A.G. Marangoni. 2004. Solid fat content determination by ultrasonic velocimetry. **Food Res. Int.** 37: 545- 555.
- Sriroth, K., S. Walapatit., R. Chollakup., S. Chotineeranat., K. Piyachomkwan and C.G. Oates. 1999. An Improved Dewatering performance in cassava starch process by a pressure filter. **Starch/Starke.** 51: 383-388.
- Taylor, J. K. 1987. **Quality Assurance of Chemical Measurements.** Lewis Publishers, Inc., Michigan.
- Tetra Pak Processing, 1995. **Dairy Processing Handbook.** 86, Lund, Sweden.
- Thiebaud, M., E. Dumay, L. Picart, J.P. Guiraud and J.C. Cheftel. 2003. High-pressure homogenization of raw bovine milk. Effect on fat globule size distribution and microbial inactivation. **Int. Dairy J.** 13: 427 – 439.
- Trout, G. M. 1950. **Homogenized Milk.** Michigan Agricultural Experiment Station, Michigan State college, East Lansing.
- U.S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2000. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies. Available Source: [http:// vm. fsan.fda.gov/~ comm/ ift-toc.html](http://vm.fsan.fda.gov/~comm/ift-toc.html), October 12, 2003.
- Van de Voort, F.R. 1980. Evaluation of MilkoScan 104 Infrared Milk Analyzer. **J. AOAC Int.** 63: 973 – 980.
- Walstra, P. 1995. Physical chemistry of milk fat globules, pp 131-178 *In* P.F. Fox, ed. **Advanced Dairy Chemistry Volume 2: Lipid.** 2<sup>nd</sup> ed. Chapman and Hall, London.

Walstra, P., T. J. Geurts., A. Noomen., A. Jellema and M. A. J. S. van Boekel. 1999. **Dairy Technology Principles of Milk Properties and Processes**. Marcel Dekker, Inc. New York.

Weber Scientific. 2003. **LactiCheck™ milk analyzer**. Hamilton. Available Source: [http:// www.Weberscientific.com](http://www.Weberscientific.com), November 10, 2003.

Wiking, L., L. Bjorck and J.H. Nielsen. 2003. Influence of feed composition on stability of fat globules during pumping of raw milk. **Int. Dairy J.** 13: 797-803.

———, J. Stagsted., L. Bjorck and J.H. Nielsen. 2004. Milk fat globule size is affected by fat production in dairy cows. **Int. Dairy J.** 14: 909-913.

ภาคผนวก

**ภาคผนวก ก**  
**วิธีการวิเคราะห์ไขมันนม**

## การวิเคราะห์ไขมันนม

### วิธีมอจอนเนียร์ (Mojonnier method)

การวิเคราะห์ปริมาณไขมันในนมด้วยวิธีมอจอนเนียร์ ตามวิธีการของ AOAC (Bradley, Jr, 2000) มีรายละเอียด ดังนี้

#### 1. ขั้นตอนการวิเคราะห์

##### 1.1 การเตรียมตัวอย่างนมที่ทดสอบ

อุ่นตัวอย่างนมให้ได้อุณหภูมิ  $38 \pm 2$  องศาเซลเซียสในเครื่องอุ่นน้ำ ผสมตัวอย่างนมโดยพลิกขวดตัวอย่างกลับไปมา 3 – 4 ครั้ง ระวังอย่าให้เกิดฟอง แล้วชั่งตัวอย่างทันที ประมาณ 10 กรัม (ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนด้วยทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในขวดสำหรับสกัดไขมันทันที (พยายามให้ตัวอย่างนมไหลลงสู่ส่วนล่างสุดของขวดมากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้)

##### 1.2 การทดสอบแบลงค์ (blank test)

ทำทุกขั้นตอนเช่นเดียวกับตัวอย่างนมที่ทดสอบ แต่ ใช้น้ำกลั่น 10 มล. แทนตัวอย่างนม

##### 1.3 การเตรียมภาชนะที่เก็บไขมัน (Preparation of fat – collecting vessel)

อบด้วยหาความชื้น หรือภาชนะเก็บไขมันที่อุณหภูมิ  $102 \pm 2$  องศาเซลเซียส นาน 1 ชม. จากนั้นปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่ง และบันทึกน้ำหนัก

##### 1.4 การตรวจวัดไขมัน

1.4.1 สกัดครั้งที่ 1 ใส่สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 1.5 – 2 มล. ลงในขวดที่มีตัวอย่างนมอยู่แล้ว เขย่าเพื่อผสมให้เข้ากันในส่วนก้นของขวด

1.4.2 หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาไลน์จำนวน 2 หยด เพื่อช่วยให้เห็นการแยกชั้นระหว่างอีเทอร์ กับชั้นของเหลวในระหว่างการสกัดไขมันได้ชัดเจนขึ้น

1.4.3 ใส่เอทานอล 10 มล. ลงในขวดปิดจุก แล้วเขย่านานประมาณ 15 วินาที

1.4.4 เติมไดเอทิลอีเทอร์ 25 มล. ปิดจุก และเขย่าแรง ๆ นาน 1 นาที ลดความดันภายในขวดลงโดยคลายจุกให้หลวม ใช้ตัวทำละลายผสมปริมาณเล็กน้อย ชะล้างจุก กับคอขวด ให้ไหลลงไปในขวด

1.4.5 เติมปิโตเลียมอีเทอร์ 25 มล. ปิดจุก แล้วเขย่าขวดอีกครั้ง นาน 1 นาที

1.4.6 นำขวดที่ปิดจุกสนิทแล้วไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 500 –600 รอบต่อ นาที นาน 1 –5 นาที (หรืออย่างน้อย 30 วินาที) กรณีที่เครื่องหมุนเหวี่ยงใช้งานไม่ได้ ควรตั้งขวดทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที จนกระทั่งเห็นสารละลายส่วนใสด้านบนแยกชั้นจาก ชั้นของเหลวอย่างเด่นชัด

1.4.7 เอาจุกออก แล้วใช้ตัวทำละลายผสมปริมาณเล็กน้อย ชะล้างจุก กับคอขวด ให้ไหลลงไปในขวด ถ้าส่วนผิวของของเหลวใสอยู่ต่ำกว่าส่วนคอของกระเปาะเล็กของขวด ค่อย ๆ รินน้ำกลั่นลงไปที่ด้านข้างของขวด เพื่อเพิ่มระดับของส่วนผิว หรือขอบของของเหลว ให้สามารถรินตัวทำละลายออกได้ง่ายขึ้น

1.4.8 รินไขมันออกจากขวดสกัดอย่างระมัดระวัง เพื่อให้ส่วนสารละลายใสไหลลงในภาชนะที่เก็บไขมัน และพยายามอย่าให้ของเหลวส่วนล่าง (สีชมพู) ไหลออกมาด้วย

1.4.9 ชะส่วนนอกของคอขวดด้วย ตัวทำละลายผสม เพียงเล็กน้อย แล้วเก็บส่วนที่ชะนี้ลงในภาชนะที่เก็บไขมัน

1.4.10 ระเหยเอาตัวทำละลายออกจากภาชนะที่เก็บไขมัน ที่อุณหภูมิไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส

1.4.11 สกัดครั้งที่ 2 ใส่ เอธานอล 5 มล. ลงในขวด และใช้เอธานอลชะคอกขวด ด้านใน จากนั้นปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3 และทำซ้ำในข้อที่ 3.4.4 – 3.4.8 แต่ใส่ไดเอทิลอีเทอร์ และ ปีโตเลียมอีเทอร์ อย่างละ 15 มล. ใช้อีเทอร์ชะคอกขวดด้านใน

1.4.12 ระเหยเอาตัวทำละลายออกจากภาชนะที่เก็บไขมัน ที่อุณหภูมิไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส

1.4.13 สกัดครั้งที่ 3 ทำซ้ำในข้อที่ 3.4.4 – 3.4. 8 โดยใส่ไดเอทิลอีเทอร์ และ ปีโตเลียมอีเทอร์ อย่างละ 15 มล. แล้วใช้อีเทอร์ ชะคอกขวดด้านในอีกครั้ง ถ้าจำเป็นให้หยดระดับของ ส่วนขอบของของเหลวขึ้นมาที่ส่วนกลางของขวด โดยค่อย ๆ รินน้ำกลั่นลงไปด้านข้างของขวดทำให้สามารถเทส่วนของสารละลายใสออกได้ง่ายขึ้น และสะดวกในการเทเอาตัวทำละลายออกใน ครั้งสุดท้ายให้ได้สมบูรณ์ที่สุด

1.4.14 ระเหยเอาตัวทำละลายออกจากภาชนะที่เก็บไขมัน ที่อุณหภูมิไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส

1.4.15 นำภาชนะที่เก็บไขมัน เข้าอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ  $102 \pm 2$  องศาเซลเซียส นานอย่างน้อย 1 ชม.

1.4.16 นำภาชนะที่เก็บไขมันออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นที่ อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 นาที)

1.4.17 ชั่งน้ำหนักของภาชนะที่เก็บไขมัน

1.4.18 ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 3.4.16 และ 3.4.17 จนกระทั่งน้ำหนักของภาชนะที่ เก็บไขมัน ลดลง 0.5 มก. หรือ น้อยกว่า หรือเพิ่มขึ้นระหว่างการชั่ง 2 ครั้ง บันทึกน้ำหนักที่ต่ำที่สุด

## 2. การคำนวณ

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{[\text{น้ำหนักภาชนะ+ไขมัน}] - \text{น้ำหนักภาชนะเปล่า} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยของสารตกค้างที่แบลงค์}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

### วิธีอัลตราโซนิก (Ultrasonic Milk Analyzers)

การวิเคราะห์ปริมาณไขมันในนมด้วยวิธีอัลตราโซนิก จากเครื่องอัลตราโซนิก มีลค์อะนาไลเซอร์ ตามวิธีการของ Eon Trading (2001) มีรายละเอียด ดังนี้

#### 1. อุปกรณ์

1.1 เครื่องวิเคราะห์ห้องค์ประกอบน้ำนมระบบอัลตราโซนิก จำนวน 2 รุ่น (Model M และ Model Ultra แสดงในภาพที่ ก1 และข1)

1.2 เครื่องแก้วต่าง ๆ ได้แก่ ปีกเกอร์ แท่งแก้วคนสาร และภาชนะพลาสติก มีความจุประมาณ 20 มิลลิลิตร สำหรับใส่ตัวอย่างนมที่เตรียมแล้วเพื่อรอการวิเคราะห์

#### 2. ขั้นตอนการวิเคราะห์

2.1 การเตรียมเครื่องวิเคราะห์ห้องค์ประกอบน้ำนมระบบอัลตราโซนิก

2.1.1 วางเครื่องบนพื้นผิวเรียบ เสียบปลั๊กไฟเข้ากับเต้ารับเปิดสวิตซ์ไฟไปที่ตำแหน่งเปิด (ON)

2.1.2 แผงหน้าจอยจะปรากฏคำว่า “WARM UP” แสดงว่าเครื่องกำลังเตรียมพร้อมในการทำงานซึ่งจะใช้เวลาอุ่นเครื่องประมาณ 5 นาที

2.1.3 เมื่อเครื่องพร้อมเริ่มทำงาน จะปรากฏคำว่า “EKOMILK” บนแผงหน้าจอ (โดยตั้งค่า Mode การทำงานของเครื่องไว้ที่ “COW MILK” สำหรับวิเคราะห์น้ำนมโค)

2.1.4 อย่าเพิ่งอ่านผลการวิเคราะห์ครั้งแรกของเครื่อง ให้ทำการวิเคราะห์ซ้ำโดยเปลี่ยนตัวอย่างใหม่ แล้วจึงค่อยอ่านผลการวิเคราะห์ครั้งที่สอง (หมายเหตุ เนื่องจากค่าการวิเคราะห์ครั้งแรกอาจคลาดเคลื่อน เพราะอาจมีน้ำค้างอยู่ในเครื่อง จากขั้นตอนการทำความสะดวก)

## 2.2 การเตรียมตัวอย่างนมที่ทดสอบ

อุ่นตัวอย่างนมให้ได้อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส ด้วยบีกเกอร์ โดยใช้แท่งแก้วคนเพื่อให้ไขมันนมเข้ากันดี

## 2.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างนม

เทตัวอย่างนมที่อุ่นแล้ว ลงในภาชนะพลาสติกประมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปวางบนแท่นพลาสติกด้านหน้าของเครื่อง แล้วกดปุ่ม “OK” เครื่องจะดำเนินการวิเคราะห์และรายงานผลเป็นค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ โดยแถวแรกเป็น เปอร์ไขมันนม เปอร์เชันต์เนื้อมันไม่รวมไขมัน ค่าความหนาแน่น และแถวที่สองเป็น การปลอมปนน้ำ ค่าจุดเยือกแข็งของนม และเปอร์เชันต์โปรตีน (สำหรับโมเดลเอ็มใช้เวลาประมาณ 80 วินาทีต่อตัวอย่าง ส่วนโมเดลอัลตราใช้เวลาประมาณ 45 วินาทีต่อตัวอย่าง) ทำการบันทึกค่าพารามิเตอร์ดังกล่าวโดยกดปุ่ม ที่มีสัญลักษณ์เครื่องพิมพ์ และจะพิมพ์ผลของค่าดังกล่าวโดยอัตโนมัติ



ก 1

ภาพที่ ก1 เครื่องวิเคราะห์ห้องค้ประกอบน้ำนระบบอัลตราโซนิค Model M  
ที่มา: Eon Trading (2001)



ข 1

ภาพที่ ข1 เครื่องวิเคราะห์ห้องค้ประกอบน้ำนระบบอัลตราโซนิค Model Ultra  
ที่มา: Eon Trading (2001)

**ภาคผนวก ข**

**วิธีการวิเคราะห์ค่า Size Distribution ของเม็ดไขมันนม**

**วิธีการวิเคราะห์ค่า Size Distribution ของเม็ดไขมันในน้ำมัน**  
**ตามวิธีดัดแปลงจาก Trout (1950): Sahai and Jackson (1996): Sriroth *et al.* (1999)**

**1. วิธีการเตรียมแผ่นสไลด์น้ำมันตัวอย่าง**

1.1 หยดตัวอย่างน้ำมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1 : 25 ml จำนวน 1 หยด ลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด

1.2 หยดสารละลาย Rhodamine B (การเตรียม Rhodamine B –solution ให้ดูที่หมายเหตุ1) ประมาณ 1 หยดลงบนแผ่นสไลด์ตัวอย่างนมที่เตรียมไว้ในข้อ 1.1 และรอให้ตัวอย่างผสมกันดี

1.3 ปิดแผ่น Cover Slide

**2. วิธีการใช้ Program Image Pro Plus ในการวัดค่า Size Distribution**

2.1 การ Calibration Program

2.1.1 Click ที่ Program Image Pro Plus

2.1.2 Click ที่ไอคอน Video / digital capture (รูปกล้องวิดีโอ) เพื่อเตรียมบันทึกภาพจากกล้องจุลทรรศน์

2.1.3 นำแผ่น Stage Micrometer มาวางบนแท่นวางสไลด์ และเปิดสวิทช์ไฟของกล้องจุลทรรศน์ พร้อมกับปรับโฟกัสภาพจนชัดที่กำลังขยาย 4x, 10x หรือ 40x ตามความต้องการ

2.1.4 สามารถดูภาพของ Stage Micrometer จากจอภาพคอมพิวเตอร์ได้ โดยทำการ Click ที่ Start Preview

2.1.5 ทำการ fix ภาพ Stage Micrometer โดยการ Click ที่ปุ่ม Snap และ Click ที่ปุ่ม Close ตามลำดับ

2.1.6 ทำการ Save ภาพที่ Stage Micrometer ในแนวนอน (แกน X) โดย Click ที่ไอคอน Save current document to disk (รูปแผ่นดิสก์) โดยสามารถ Save เป็นชื่อไฟล์ได้ตามต้องการ

2.1.7 หลังจากนั้นให้นำแผ่น Stage Micrometer มาเปลี่ยนวางในแนวตั้ง (แกน Y) และทำการ Save ภาพตามวิธีการข้างต้น

2.1.8 ทำการ Calibrate program โดย Click ที่ Menu Bar “measure” แล้ว Click ต่อไปที่ Calibration และเลือก Spatial

2.1.9 Click ที่ “new” และเปลี่ยนชื่อที่ Name เดิมเป็น Magnify 40x และเปลี่ยนหน่วยวัดที่ Unit เป็น Microns

2.1.10 หลังจากนั้น Click กลับไปที่ภาพ Stage Micrometer ในแนวนอน (แกน X) 1 ครั้ง แล้วจึง Click ที่ปุ่ม Image 1 ครั้งเพื่อ Calibrate ตามแนวแกน X ก่อน เมื่อ Click แล้วจะสังเกตเห็นเส้นตรงสีขาวปรากฏอยู่ ก็ให้ใช้เมาส์ Click ที่ขอบเส้นสีขาวด้านซ้าย 1 ครั้ง แล้วเลื่อนเมาส์ให้ขอบของเส้นตรงสีขาวตรงพอดีกับขีดสีดำของเส้นสเกลของ Stage Micrometer (ระยะห่างของสเกล 1 ขีดเล็ก = 10 ไมครอน) หลังจากนั้นจึง Click ที่ขอบเส้นตรงสีขาวด้านขวา 1 ครั้ง แล้วเลื่อนให้ตรงพอดีขีดสีดำของเส้นสเกลของ Stage Micrometer เส้นใดก็ได้ ถ้าระยะทางระหว่างขอบซ้ายและขอบขวาของเส้นสีขาวเท่ากับ 10 ช่องเล็กของ Stage Micrometer ก็แสดงว่าเส้นสีขาวมีความยาว 100 ไมครอน ก็ให้กำหนดค่าลงในช่อง “Scaling” โดยเปลี่ยนค่าจาก 1 ไปเป็น 100 แล้ว Click OK. และให้จดค่าที่เครื่องคำนวณให้ที่ตำแหน่ง X ไว้

2.1.11 ต่อมาจึง Calibrate ตามแนวตั้ง (แกน Y) โดย Click ที่ภาพ Stage Micrometer แนวตั้ง แล้ว Click ที่ปุ่ม Image อีก 1 ครั้ง แล้วทำตามข้อ 2.1.10 ตามลำดับ เมื่อ Calibrate Scale ตามแกน Y เสร็จก็ให้ Click ที่ OK. หลังจากนั้นให้เปลี่ยนแปลงค่าที่ตำแหน่ง X เป็นค่าที่จดไว้ตามข้อ (2.1.10) แล้วจึง Click ที่ OK. ที่มุมขวามบน เครื่องก็จะทำการ Save Calibrate ในอัตโนมัติ (ภาพ stage แกน X และแกน Y ที่กำลังขยาย 4x, 10x หรือ 40x ให้ดูที่หมายเหตุ ภาพที่ ก2)

### 3. การวัด Size Distribution ของสไลด์น้ำมันตัวอย่าง

3.1 นำแผ่นสไลด์ที่เตรียมไว้ข้างต้นมาวางบนแท่นสไลด์ และเปิดสวิตช์ของกล้องจุลทรรศน์ ปรับกำลังขยายของกล้องเป็น 40x และปรับหาโฟกัสภาพจนได้ภาพเม็ดไขมันนชัด

3.2 Click ที่ไอคอน Video / digital capture และ Click ที่ปุ่ม Start preview เพื่อสังเกตภาพเม็ดไขมันนจากจอคอมพิวเตอร์

3.3 Fix ภาพเม็ดไขมันนโดย Click ที่ปุ่ม Snap และ Click ที่ Close ตามลำดับ (ใช้การนับจำนวนเม็ดไขมันนในนคิบ (Sahai and Jackson, 1996: Sriroth *et al.*, 1999) และตัวอย่างนที่ผ่านการไฮโมจิไนส์ ดัดแปลงตามวิธีของ Farrall index (Trout, 1950) ให้ดูในหมายเหตุข้อ 3)

3.4 ต่อมา Click ที่ Menu Bar “Process” และเลือก Filters จะปรากฏ Menu ของ Filters ให้เลือกใช้ โดยจะต้องกำหนดชนิด Filters เป็น “Erode” และที่ Options กำหนดเป็น 2x2 square แล้วจึง Click ที่ปุ่ม apply 1 ครั้ง แล้วจึง Close

3.5 Click ที่ปุ่ม Binarize Image 1 ครั้ง จะปรากฏ Menu ชื่อ Threshold ซึ่งจะใช้ในการปรับภาพเม็ดไขมันนและภาพจุดปนเปื้อนออกจากกัน โดยใช้เมาส์ Click ที่ลูกศรที่ชี้ขึ้น (^) แล้วเลื่อนไปทางซ้ายหรือทางขวา จนกว่าจะได้แต่ภาพเม็ดไขมันนที่ต้องการ แล้วจึง Click OK.

3.6 Click ที่ Menu Bar “Count and Measure Objects” (รูปจุดกลมสีแดงบนพื้นดำ) และกำหนดตัวแปรต่าง ๆ ของการวัดขนาดดังนี้

3.6.1 Click ที่ measure (ภายใน Menu ของ Count / Size) และ Click เลือก Select measurements จะปรากฏ Menu ของ Select measurements ต่อมาให้เลือก Diameter (ave) ที่ช่องด้านซ้ายของ measurements: เมื่อ Click ที่ Diameter (ave) 1 ครั้ง คำว่า “Diameter (ave)” ก็ะปรากฏที่ช่องด้านขวาของ Filter ranges ทันที

3.6.2 Click ที่คำว่า Diameter (ave) ที่ช่อง filter ranges จนขึ้นแถบสีเขียว แล้วจึงเลื่อนเมาส์ลงมา Click ที่ start และ end เปลี่ยนค่าเป็นช่วงตามต้องการ แล้วจึง Click OK.

3.6.3 Click 1 ครั้ง ที่ปุ่ม options (ภายใน Menu ของ Count / Size) โดยเปลี่ยนชนิดของ Outline Style เป็น Filled, Label Style เป็น Object#, Label Color เป็น Green และ Click ที่คำว่า Clean Border, Prefilter และ Fill Holes อย่างละ 1 ครั้ง และ Click OK.

3.7 Click ที่ count 1 ครั้ง โปรแกรมจะระบายสีเฉพาะเม็ดไขมันนมเท่านั้นให้เป็นสีแดง พร้อมทั้งจะมีตัวเลขกำกับเม็ดไขมันนมที่นับทุกเม็ด แต่ในกรณีอาจพบเม็ดไขมันนมที่ซ้อนทับกัน หรือพบจุดขนาดเล็กมาก ๆ ปนเปื้อน ก็สามารถลบภาพจุดดังกล่าวได้โดย Double-Click (ซ้าย) ไปที่จุดเล็ก ๆ นั้น จะปรากฏ Menu Object Attributes ก็ให้ Click ที่คำว่า Hide 1 ครั้ง ภาพจุดปนเปื้อนที่ไม่ต้องการวัดจะหายและไม่ถูกวัดขนาด

3.8 หลังจากนั้นสามารถดูข้อมูลการวัดขนาดเม็ดไขมันนมได้ โดยเลือกที่ View และเลือก Measurement Data ก็จะขึ้นค่าของเม็ดไขมันที่วัดได้ทั้งหมด และสามารถจัดเรียงข้อมูลจากน้อยไปหามากได้โดย Click ที่ Sort up หรือเรียงข้อมูลจากมากไปหาน้อย โดย Click ที่ sort down

3.9 สามารถสร้างกราฟแสดง Size Distribution ได้ โดย Click ที่คำว่า File 1 ครั้ง และเลือก DDE to Excel รอจนกว่าจะขึ้นไอคอน Microsoft Excel ที่ขอบจอภาพด้านล่าง ก็ใช้เมาส์ไป Click ที่ไอคอนนี้ 1 ครั้ง โปรแกรม Image Pro จะเชื่อมต่อข้อมูลเข้าสู่ Excel ให้อัตโนมัติ

3.10 ทำการคำนวณค่า Size Distribution และสามารถสร้างกราฟ ได้ตามต้องการ การคำนวณค่า Size Distribution ในโปรแกรม Excel จะต้องใช้สูตรคำนวณดังนี้  
 ที่ขนาดในช่วง 0 ไมครอน จะใช้สูตร = COUNTIF (B: B, "<=0")  
 ที่ขนาดในช่วง 0 - 3 ไมครอน จะใช้สูตร = COUNTIF (B: B, "<=3") - COUNTIF (B: B, "<=0")  
 ที่ขนาดในช่วง 3 - 6 ไมครอน จะใช้สูตร = COUNTIF (B: B, "<=6") - COUNTIF (B: B, "<=3")  
 ที่ขนาดในช่วง 6 - 9 ไมครอน จะใช้สูตร = COUNTIF (B: B, "<=9") - COUNTIF (B: B, "<=6")  
 ที่ขนาดในช่วง 9 - 12 ไมครอน จะใช้สูตร = COUNTIF (B: B, "<=12") - COUNTIF (B: B, "<=9")

ใช้สมการนี้คำนวณช่วงขนาดเม็ดไขมันนมไปเรื่อยจนถึงช่วงขนาดสุดท้ายที่วัดได้จึงนำค่าเปอร์เซ็นต์ของ Size Distribution (แกน Y) และช่วงขนาดของเม็ดไขมันนม (แกน X) มาพลอตกราฟโดยเลือกชนิดกราฟแบบ XY-Scatter

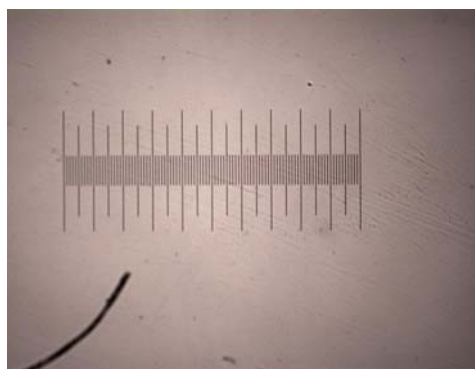
**หมายเหตุ:** 1. การเตรียมสารละลาย Rhodamine B (Merck & Co., Inc.)

Rhodamine B                    0.1 gram

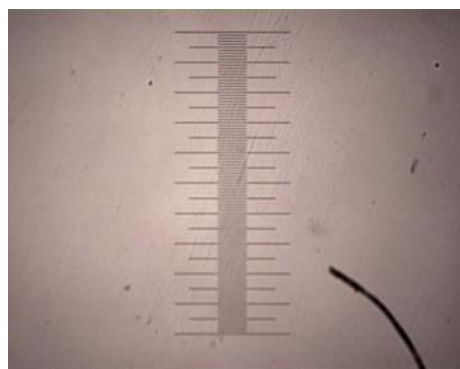
น้ำกลั่น                            10 ml.

ละลาย Rhodamine B ในน้ำกลั่นปริมาณน้อย ๆ ก่อนแล้วเติมน้ำให้ครบ เก็บใส่ขวดสีน้ำตาล

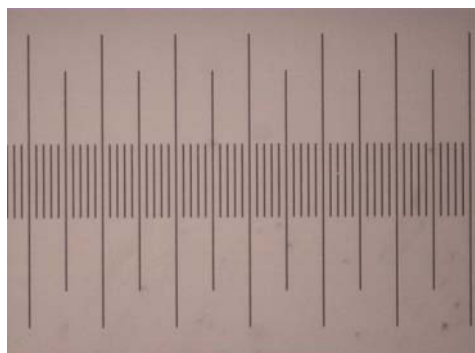
## 2. ภาพการ Calibration Program



4X



4Y



10X



10Y



40X



40Y

ภาพที่ ก2 Calibration Program Stage แกน X และ แกน Y ที่กำลังขยาย 4, 10 และ 40 เท่า

3. ตัวอย่างนมดิบ ใช้จำนวน Field ในสไลด์ซึ่งต้องนับไม่น้อยกว่า 15 Field จำนวนเม็ดไขมันนมที่นับได้ไม่มีการรวมกลุ่มกัน โดยมีลักษณะแยกเป็นเม็ดไขมันอย่างชัดเจน และต้องมีมากกว่า 500 เม็ด ของจำนวน Field ทั้งหมด สำหรับการนับตัวอย่างนมที่ผ่านการโฮโมจีไนส์สามารถใช้วิธีการนับจำนวนเม็ดไขมัน เช่นเดียวกับตัวอย่างนมดิบแต่ใช้การนับจำนวน 5 Field

ภาคผนวก ค  
วิธีการโฮโมจีไนส์นม

## การโฮโมจีไนส์นม

การโฮโมจีไนส์นมด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizers) วิธีการ มีรายละเอียด ดังนี้

### 1. อุปกรณ์

1.1 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizers) Model APV 1000, (APV Homogenizers AS, Albertslund, Denmark)

1.2 ภาชนะพลาสติก มีความจุ ประมาณ 1 ลิตร สำหรับใส่ตัวอย่างนมที่เตรียมไว้แล้ว เพื่อรอการโฮโมจีไนส์

1.3 เทอร์โมมิเตอร์

### 2. ขั้นตอนการโฮโมจีไนส์

2.1 การเตรียมเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (แสดงในภาพที่ ก3)

2.1.1 วางเครื่องบนพื้นผิวเรียบ และมีช่องให้น้ำสามารถไหลออกจากตัวเครื่องได้ เสียบปลั๊กไฟเข้ากับเต้ารับ

2.1.2 ดำเนินการต่อสายยางให้น้ำเข้าระบบ cooling water

2.1.3 เมื่อเครื่องพร้อมเปิดสวิตช์ไฟ และกดปุ่ม “Emergency” เริ่มปรับความดันของเครื่องโดยสังเกตจาก digital pressure gauge จะต้องเป็นศูนย์ (0 bar) เปิดน้ำของระบบ cooling ให้น้ำไหลผ่านเครื่องตลอดเวลาขณะที่ทำการโฮโมจีไนส์นม และเทตัวอย่างนมดิบที่ไม่ใช่ตัวอย่าง สำหรับงานทดลองเพื่อทำการปรับระดับความดันของ pressure gauge ก่อน

2.1.4 การปรับระดับความดันให้เพิ่มขึ้น ต้องเปิดวาล์วของไฮโดรเจนเซอร์ โดยทำการหมุนวงล้อ (hand wheel) ตามเข็มนาฬิกา ซึ่งอยู่ด้านตัวเครื่องข้างก่อน เป็นการปรับความดันในระดับขั้นแรก (first-stage) ของการไฮโดรเจนส์แบบ Two stage เมื่อได้ความดันที่ต้องการในขั้นแรกแล้วก็ทำการปรับความดันขั้นที่สอง (second-stage) โดยหมุนวงล้อตามเข็มนาฬิกาเช่นเดียวกัน ซึ่งอยู่ด้านหน้าของเครื่องจนได้ความดันรวมที่ต้องการในแบบ Two-stage สำหรับการไฮโดรเจนส์ด้วยรูปแบบ Single-stage ดำเนินการเฉพาะการปรับความดันของขั้นแรก (first-stage) เท่านั้น และสังเกตความดันรวมที่ได้จาก digital pressure gauge (แสดงในภาพที่ ข3)

## 2.2 การเตรียมตัวอย่างนมที่ทดสอบ

อุ่นตัวอย่างนมดิบให้ได้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสก่อน โดยใช้ภาชนะซ้อนกัน และให้ความร้อนจากน้ำที่เดือด (indirect) แก่ตัวอย่างนม (วัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์)

## 2.3 การไฮโดรเจนส์ตัวอย่างนม

เทตัวอย่างนมที่อุ่นแล้ว ลงในช่องบรรจุนมด้านหน้าของเครื่อง โดยที่ระความดันของเครื่องจะต้องปรับค่าไว้ตามความต้องการแล้ว (ข้อ 2.1.4) เก็บตัวอย่างนมที่ผ่านการไฮโดรเจนส์แล้วในภาชนะที่รองรับนมด้านล่าง เพื่อรอกการวิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ ก3 การเตรียมเครื่องโฮโมจีไนเซอร์



ภาพที่ ข3 การปรับระดับความดันของเครื่องโฮโมจีไนเซอร์

Model APV 1000